

THÈSE DE

PARIS.

1889

N^o. 122.

120

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

WILLIAM VIGNAL

RÉPÉTITEUR A L'ÉCOLE DES HAUTES ÉTUDES
(LABORATOIRE D'HISTOLOGIE DU COLLÈGE DE FRANCE)
LAURÉAT DE L'INSTITUT (PRIX LALLEMAND, 1887)
MEMBRE TITULAIRE DE LA SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE, ETC.

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES BACTÉRIACÉES. — (Le bacille mesentericus vulgaris.)

2^e THÈSE. — DÉVELOPPEMENT DES ÉLÉMENTS DU SYSTÈME CÉRÉBRO-SPINAL CHEZ L'HOMME ET LES MAMMIFÈRES.

Soutenues le 22 juillet 1889, devant la Commission d'examen.

MM. DELAGE.....	Président
BONNIER.....	} Examinateurs.
DASTRE.....	

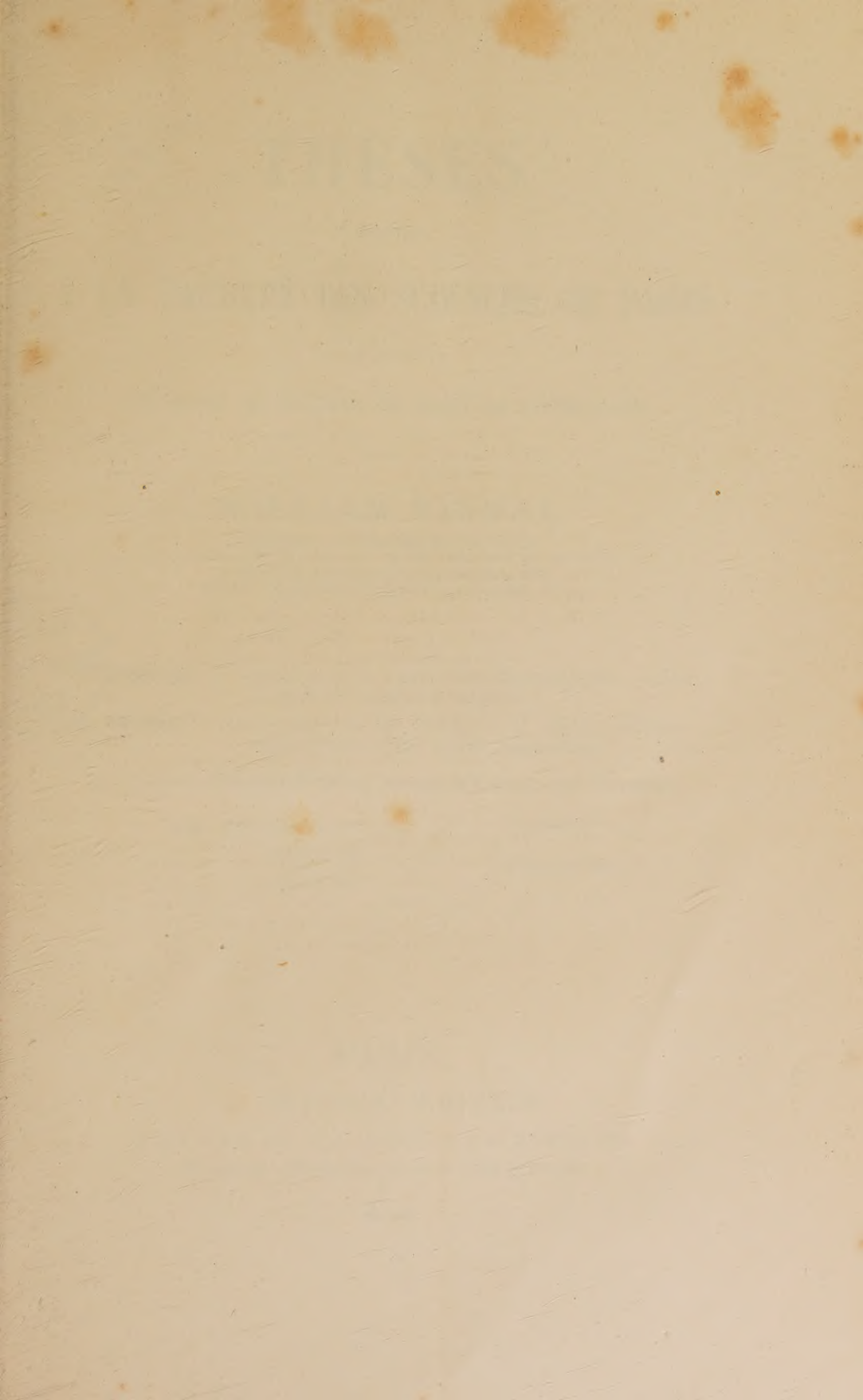
PARIS

G. MASSON, ÉDITEUR

LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain, en face de l'École de Médecine

1889



SÉRIE A, N° 120

N° D'ORDRE

661

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

WILLIAM VIGNAL

RÉPÉTITEUR A L'ÉCOLE DES HAUTES ÉTUDES

(LABORATOIRE D'HISTOLOGIE DU COLLÈGE DE FRANCE)

LAURÉAT DE L'INSTITUT (PRIX LALLEMAND, 1887)

MEMBRE TITULAIRE DE LA SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE, ETC.

ACAD.
BIBL.

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES BACTÉRIACÉES. — (Le bacille mesentericus vulgatus.)

2^e THÈSE. — DÉVELOPPEMENT DES ÉLÉMENTS DU SYSTÈME CÉRÉBRO-SPINAL CHEZ L'HOMME ET LES MAMMIFÈRES.

Soutenues le *22 juill* 1889, devant la Commission d'examen.

MM	MM. DELAGE.....	<i>Président</i>
	BONNIER.....	{ <i>Examineurs.</i>
	DASTRE.....	

PARIS

G. MASSON, ÉDITEUR

LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain, en face de l'École de Médecine

1889

ACADÉMIE DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

	MM.	
Doyen.....	HÉBERT, Professeur....	Géologie.
Professeurs honoraires. {	PASTEUR.	
	DUCHARTRE.....	Botanique.
	DE LACAZE-DUTHIERS.	Zoologie, Anatomie, Physiologie comparée.
	HERMITE.....	Algèbre supérieure.
	TROOST.....	Chimie.
	FRIEDEL.....	Chimie organique.
	O. BONNET.....	Astronomie.
	DARBOUX.....	Géométrie.
	TISSERAND.....	Astronomie.
	LIPPMANN.....	Physique.
	HAUTEFEUILLE.....	Minéralogie.
	BOUTY.....	Mécanique rationnelle.
Professeurs.....	APPELL.....	Physique.
	DUCLAUX.....	Chimie biologique.
	BOUSSINESQ.....	Mécanique physique et expérimentale.
	PICARD.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	POINCARÉ.....	Calcul des probabilités, Physique mathématiques.
	Y. DELAGE.....	Zoologie, Anatomie, Physiologie comparée.
	BONNIER.....	Botanique.
	DASTRE.....	Physiologie.
	DITTE.....	Chimie.
	WOLF.....	Physique céleste.
Professeurs adjoints....	J. CHATIN.....	Zoologie, Anatomie, Physiologie comparée.
	JOLY.....	Chimie.
Secrétaire.....	PHILIPPON.	

A

M. L. MALASSEZ

Permettez-moi de vous dédier ce travail comme un témoignage de la sincère gratitude que j'éprouve pour la bienveillance que vous n'avez cessé de me témoigner pendant les quatorze années que j'ai travaillé à vos côtés.

W. V.

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DES BACTÉRIACÉES

(SCHIZOMYCÈTES)

LE BACILLE MESENTERICUS VULGATUS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DES BACTÉRIACÉES

(SCHIZOMYCÈTES)

LE BACILLE MESENTERICUS VULGATUS

Parmi tous les points obscurs de la botanique, il en est un qui, plus que tous les autres, l'est particulièrement : c'est l'histoire de ces plantes singulières qu'on nomme *bactériacées* ou *schizomycètes*. Cependant le rôle qu'elles jouent dans la nature est considérable, elles sont non seulement les agents de la fabrication d'un grand nombre de produits d'un usage courant, si bien qu'elles sont de puissants agents industriels, elles sont non seulement, ainsi que les travaux de l'illustre Pasteur nous l'ont fait voir, des agents pathogènes d'autant plus redoutables pour l'homme et les animaux qu'elles peuvent se propager presque à l'infini, mais elles sont aussi des agents destructeurs de la matière organique, lorsque celle-ci est frappée de mort, c'est par elles que cette matière descend graduellement l'échelle de la décomposition, pour arriver en dernière analyse au carbonate d'ammoniaque.

C'est parmi les micro-organismes appartenant à ce dernier groupe que j'ai pris la bactérie qui fera le sujet de ce travail. Je l'ai choisie parce qu'elle est l'une des plus répandues, on la rencontre non seulement dans presque toutes les

infusions végétales qu'on abandonne à l'air, mais dans l'eau, pour peu qu'elle ait coulé à l'air libre à la surface du sol, dans notre propre bouche et dans notre tube digestif, etc., et comme elle possède de puissantes propriétés diastasiques, elle me paraît être un des agents les plus énergiques de la transformation des matières organiques. Pour ces raisons, j'ai pensé qu'en faire une étude aussi complète que possible présenterait quelque intérêt.

Il était plusieurs manières d'envisager cette étude; ainsi, à l'exemple d'un des élèves de M. Pasteur, que nous regrettons tous, j'aurais pu, mettant à profit la rapidité avec laquelle se font les générations de ce micro-organisme, voir si la forme varie avec la fonction et apporter ainsi ma pierre à l'édifice de la mutabilité ou de la fixité des espèces. Mais j'ai pensé que comme ce micro-organisme paraît remplir des fonctions diverses, comme il semble posséder une action puissante sur bon nombre de matières organiques, il serait, pour le présent, plus intéressant, avant de chercher à expérimenter sur lui, d'étudier aussi à fond que possible son histoire. C'est ce que j'ai tenté.

CHAPITRE PREMIER

Historique.

Le bacille *mesentericus vulgaris* a été découvert par R. Koch sur les pommes de terre, il le décrit comme étant un petit bâtonnet avec des extrémités arrondies, souvent réunis deux ensemble, formant souvent des chaînettes composées de 4 articles. Lorsqu'il est cultivé sur la gélatine ou la gélose, ces deux extrémités se colorent moins que le centre. Il est mobile, sur la gélatine, il forme des colonies rondes, présentant à leur centre une membrane jaunâtre, et liquéfie rapidement la gélatine. Lorsqu'on le cultive dans un tube de gélatine par piqûre, il la liquéfie rapidement le long du canal, et bientôt la liquéfaction s'étend à toute la gélatine, et il forme à la surface une membrane. Il pousse sur les pommes de terre d'une façon caractéristique, il la couvre d'une couche feutrée, plissée, qui s'étend rapidement sur toute la pomme de terre, et il forme des spores.

Flügge, dans son excellent manuel, distingue deux bacilles de la pomme de terre, l'un est le *bacillus mesentericus fuscus*, l'autre le *bacillus mesentericus vulgaris*, ce dernier est évidemment celui que Koch a nommé *Kartoffel bacillus*.

D'après cet auteur, c'est un bacille assez volumineux, « doué d'un mouvement d'oscillation ». Il forme souvent des pseudo-filaments qui produisent des spores globuleuses. Sur les plaques de gélatine, les colonies formées par ces germes sont blanc bleuâtre, presque transparentes. Plus tard, le centre de la colonie est blanc opaque. Les colonies de la surface peuvent avoir jusqu'à un centimètre de diamètre. Celles-ci sont enfoncées dans la gélatine liquéfiée. Sous un faible grossissement, on voit qu'elles constituent

des disques sombres, nettement granuleux et à bords rugueux.

Dans les cultures par piqûre, il se fait d'abord une liquéfaction en entonnoir, puis, plus tard, celle-ci s'étend à toute la couche superficielle. Dans la partie liquéfiée, flottent de nombreux flocons gris, à sa surface il existe une membrane mince gris blanchâtre, ridée. Au fond de l'entonnoir de liquéfaction, on voit s'accumuler une masse floconneuse épaisse. Vers le bas, on voit encore, dans les premiers jours, le reste du trait d'inoculation revêtu d'une épaisse couche blanche. Sur les pommes de terre, ces bacilles forment un enduit blanc, très épais, plissé dès le début et s'étendant rapidement sur toute la surface. Quand on veut enlever ce revêtement, on constate qu'il pénètre très profondément dans la pomme de terre. « Les parties enlevées adhèrent, au moyen d'une substance visqueuse, à la surface de la pomme de terre, de telle sorte qu'on peut les étirer en longs filaments (1). »

(1) Flügge, *Les micro-organismes*, traduction française par Henrijean. Bruxelles, 1887.

CHAPITRE II

Dissémination.

Le bacille *mesentericus vulgatus* est un des micro-organismes les plus répandus, comme j'ai déjà eu l'occasion de le dire en exposant les raisons qui m'ont fait l'étudier. Le simple fait, que si on laisse exposé à l'air une tranche de pomme de terre cuite, que si on ne prend pas toutes les précautions nécessaires lorsqu'on ensemente sur des pommes de terre d'autres micro-organismes on le voit apparaître, sont des preuves suffisantes de sa diffusion.

Mais il m'a paru intéressant de chercher méthodiquement quel était sa fréquence dans l'air, dans l'eau ou dans des eaux de diverses origines et enfin quels étaient les points où on le rencontrait de préférence.

1° *Dans l'air.* — Pour l'analyse bactériologique de l'air, beaucoup de procédés ont été indiqués, il me suffit de rappeler les noms de Pasteur, Miquel, Petri, Hesse, etc. Je n'ai employé aucun de ces procédés. Celui dont j'ai fait usage se rapproche de ceux que MM. Straus et R. Wurtz (1) ont décrits cette année. Comme je trouvais que mon appareil était presque aussi bon que le leur, je n'ai pas jugé qu'il fût nécessaire de l'abandonner, d'autant plus qu'on le construit facilement avec les objets qui se trouvent dans tous les laboratoires, c'est-à-dire un tube à analyse, un tube de verre à gaz et un bouchon de liège ou de caoutchouc.

Mon appareil se compose donc d'un tube à analyse d'environ 20 centimètres de long et 18 à 20 millimètres de large, fermé par un tampon de ouate traversé par un tube

(1) Straus et R. Wurtz, *Sur un procédé perfectionné d'analyse bactériologique de l'air. Annales de l'Institut Pasteur*, n° 4, 1888, p. 171, figure de l'appareil, p. 175.

de verre à gaz de 4 à 5 millimètres de diamètre et effilé à l'extrémité qui pénètre dans le tube à analyse. Ce tube est

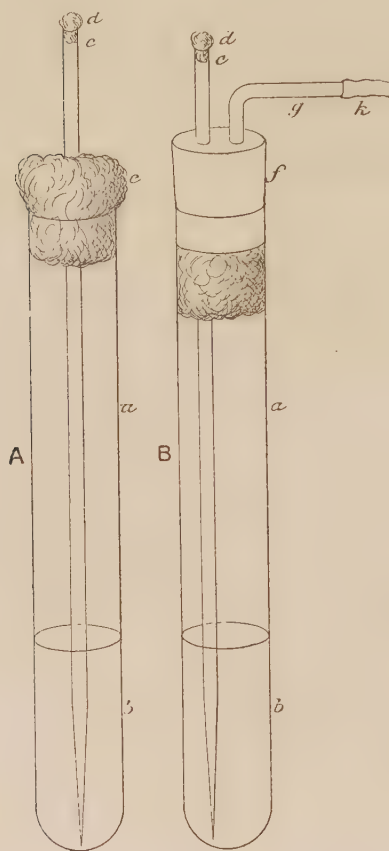


Fig. 1. — Appareil pour recueillir les bactéries de l'air. — A, au moment où il sort de l'autoclave; B, au moment où il est prêt à fonctionner; *a*, tube à analyse contenant le bouillon nutritif; *c*, tube d'arrivée de l'air; *d*, bourre de coton qu'on enlève au moment de la mise en marche; *e*, bourre de coton fermant le tube à analyse; *f*, bouchon fermant le tube à analyse et traversé par le tube d'arrivée de l'air et par le tube *g*, sur lequel se fixe le tube *k*, de l'aspirateur, *b* bouillon.

plus long que le tube à analyse de manière à le dépasser de 3 à 5 centimètres environ, après avoir garni l'ouverture supérieure du petit tube (voir fig. 1, A) d'un petit tampon de ouate, on stérilise le tout dans le four à flamber. Après la stérilisation on retire le tampon de ouate avec le tube qui le traverse et on introduit dans le tube à analyse environ 6 à 7 centimètres cubes de bouillon nutritif, puis on stérilise de nouveau tout l'appareil avec le bouillon à l'autoclave à 120°.

Il est facile de préparer ainsi un assez grand nombre de tubes, qui peuvent attendre à l'abri de la poussière le moment de s'en servir.

Pour les employer, je brûlai la surface du gros tampon de ouate, après avoir légèrement retiré le petit tube de façon à éviter d'allumer également son tam-

pon, puis je faisais traverser à ce tube un des trous d'un bouchon deux fois percé, l'autre trou portait un tube coudé. Afin que ce bouchon n'apportât pas de germes avec lui, on

l'avait au préalable plongé dans un bain légèrement acide de bichlorure de mercure, j'ajustais alors le bouchon sur le tube à analyse au-dessus du tampon de ouate, mon appareil était alors prêt à fonctionner (Voy. fig. 1, B). Il me suffisait, pour recueillir les micro-organismes contenus dans un volume d'air, de relier le tube coudé avec un aspirateur et d'enlever au moment où l'aspiration débutait le tampon fermant le petit tube.

L'air barbotte sous la forme de fines bulles dans le bouillon et s'y dépouille des germes qu'il pouvait contenir.

Il est bon, ainsi que le recommandent MM. Straus et Wurtz, d'ajouter une goutte d'huile stérilisée au bouillon, cette goutte d'huile empêche la formation de la mousse, si on n'en a pas mis, il faut faire passer le courant d'air avec une extrême lenteur, pour éviter qu'il ne se développe beaucoup de mousse et que celle-ci vienne mouiller le tampon de ouate.

Pour connaître le nombre de germes de l'air qui avait barboté dans mon bouillon et par conséquent le nombre de germes du bacille *mesentericus vulgaris*, j'enlevais le bouchon de caoutchouc et ses deux tubes, puis le tampon de ouate et avec des précautions convenables j'ajoutais à mon bouillon son volume de gélatine nutritive à 15 p. 100 (1) et j'étendais cette gélatine sur des plaques de verre en suivant la méthode de Koch. Lorsque les colonies commençaient à se montrer du 3^e au 5^e jour, suivant la température, je les examinai et je comptai celles du bacille *mesentericus vulgaris* que je pouvais reconnaître au microscope. Quoique les colonies de ce bacille soient fort caractéristiques, j'avais quelquefois des doutes, j'ensemenciais alors la colonie douteuse dans un tube de gélatine nutritive pour les lever.

Au lieu d'étendre la gélatine sur des plaques de verre, ce qui expose toujours à un danger de contamination extérieure, on pourrait employer le procédé de Esmarch et faire solidifier la gélatine sur les parois du tube à analyse, mais j'avoue que n'ayant jamais eu lieu de me féliciter de ce procédé pour d'autres recherches, à cause des difficultés

(1) En été cette gélatine contenait en outre un tiers de gélose pour éviter la liquéfaction par la chaleur.

qu'on éprouve à examiner sur une surface cylindrique les colonies, je n'en ai point fait usage pour celle-ci.

Je cherchais constamment les bactéries contenues dans 5 litres d'air et j'ai obtenu les résultats consignés dans le tableau suivant :

LIEU ET ÉPOQUE DE LA PRISE D'AIR.	NOMBRE TOTAL des colonies.	NOMBRE DES COLONIES du bacille <i>Mesentericus vulgatus</i> .
Paris, du 4 ^e étage de l'annexe du Collège de France, air extérieur, le 20 janvier.	70	4
Paris, <i>idem</i> , le 12 février.....	51	3
Paris, air des jardins situés entre la rue d'Assas et la rue Noire-Dame-des-Champs, le 27 février.....	40	2
Paris, du 4 ^e étage de l'annexe du Collège de France, air extérieur, le 4 mars....	80	2
Paris, <i>idem</i> , le 25 mars	75	5
Paris, <i>idem</i> , le 10 avril.....	60	4
Paris, <i>idem</i> , le 4 mai.....	67	3
Villerville (Calvados), le vent soufflant de terre, le 18 juillet.....	51	2
Villerville, le vent venant de la mer, vent très faible, le 25 juillet.....	20	0
Villerville, vent nul, la prise d'air a été faite au voisinage de vastes champs de blé, le 24 juillet.....	30	4
Villerville, vent violent venant de la mer, le 7 août.....	10	1
Villerville, vent modéré, venant de la terre, le 20 août.....	30	2

2° *Dans la terre.* — Pour faire des prises de terre, de fumier, de sable, etc., je me servais simplement d'une paire de pinces plates, assez larges, que je flambais au moment de m'en servir. J'introduisais la matière recueillie dans un petit tube de verre stérilisé et fermé par un tampon de ouate. De retour au laboratoire après avoir fait une pesée de cette terre, ce qui était facile, car mes tubes étaient tarés à l'avance, je délayais la terre, le fumier, etc., dans un certain volume d'eau stérilisée de façon à ce que chaque décigramme le fût dans 100 centimètres cubes d'eau.

Puis j'introduisais dans 10 à 12 centimètres cubes de gélatine nutritive deux gouttes de cette eau que j'étendais

ensuite sur trois plaques de verre ayant 9 centimètres sur 12 de côté.

Le résultat de ces séries d'expériences est consigné dans le tableau suivant :

LIEU ET MATIÈRE EXAMINÉE.	NOMBRE TOTAL DES COLONIES sur les 3 plaques de gélatine nutritive.	NOMBRE DES COLONIES du bacille <i>Mesentericus vulgatus.</i>
Terre prise dans le jardin du Luxembourg, le 10 janvier 1888.....	220	18
Terre prise dans la cour du Collège de France, le 15 janvier 1888.....	247	21
Terre prise dans le jardin du Luxembourg, le 20 février 1888.....	313	41
Terre prise dans un champ fortement fumé, au voisinage de la gare de Fontenay-aux-Roses, le 5 avril 1888.....	451	53
Terre prise dans un champ de blé, au voisinage d'Ecouen, le 15 juin 1888....	297	33
Terre prise dans un champ de blé, au voisinage de Garches, le 18 juin 1888..	321	41
Terre prise dans un champ de betteraves fortement fumé, au voisinage de la Celle-Saint-Cloud, le 20 juin 1888.....	493	28
Terre prise dans un champ de blé, au voisinage de Honfleur, le 25 juin 1888....	287	31
Terre prise dans un champ de blé, au voisinage de Villerville, le 25 juin 1880.	344	48
<i>Idem</i> , le 26 juin.....	541	51
<i>Idem</i> , le 30 juin.....	527	43
Terre prise tout proche d'un fumier, dans une ferme, le 10 août 1888.....	453	21
<i>Idem</i> , dans un autre point, le 10 août 1888.	562	30
<i>Idem</i> , dans une autre ferme, le 15 août 1888.	559	41
<i>Idem</i> , dans un autre point, le 15 août 1888.	667	53
Terre prise au contact d'un fumier, dans une ferme, le 20 août 1888 (une goutte seulement).....	353	28
Terre prise dans une prairie servant de pâturage, le 20 août 1888.....	328	10
Terre provenant de la transformation de feuilles d'arbres, le 25 août 1888.....	353	4
Terre prise dans un champ de blé venant d'être moissonné, le 1 ^{er} septembre 1888.	265	12

3° *Dans l'eau.* — Pour prélever des échantillons d'eau, je me servais de petites ampoules de verre, contenant environ 2 ou 3 centimètres cubes, elles se terminaient par un tube

effilé, fermé à la lampe, lorsqu'elles étaient encore chaudes, de façon à ce qu'à leur intérieur il y eut un vide partiel. Pour m'en servir je les lavais au bichlorure de mercure, je les plongeais dans l'eau ou les plaçais sous un robinet, et avec une pince flambée je brisais leur extrémité effilée, l'eau grâce au vide pénétrait dans leur intérieur. Je fermais alors leur extrémité avec la flamme d'une lampe à alcool ou avec une simple allumette. De retour au laboratoire, après avoir flambé leur pointe je les rouvrais et je faisais tomber cinq gouttes dans de la gélatine que j'étendais ensuite en plaque, à moins que l'eau ne fût très impure; dans ce cas, j'en ajoutais une plus faible quantité.

PROVENANCE DE L'EAU.	NOMBRE TOTAL DES COLONIES sur les 3 plaques de gélatine nutritive.	NOMBRE DES COLONIES du bacille <i>Mesentericus</i> <i>vulgatus</i> .
Eau de la Vanne, le 1 ^{er} mars 1888.....	85	3
Eau de la Seine, venant de l'eau distribuée par la Ville, le 1 ^{er} mars 1888.....	243	13
Eau de la Seine, prise au-dessous du pont Saint-Michel, le 10 mars 1888.....	343	14
Eau de la Seine, prise au pont des Invalides, le 20 mars 1888.....	427	21
Eau de la Vanne, le 10 avril 1888.....	95	10
Eau de la Seine, venant de l'eau distribuée par la ville, le 10 avril 1888.....	310	9
Eau de la Seine, prise sous le pont d'Alma, le 4 mai 1888.....	442	13
Eau de la Seine, prise sous le pont d'Alma, le 20 mai 1888.....	369	12
Eau de la Seine, prise sous le pont Saint-Michel, le 3 juin 1888.....	457	43
Eau d'un puits situé dans la cour d'une ferme, l'eau était claire et avait bon goût.	453 427	18 19
Eau d'un puits situé dans la cour d'une ferme, l'eau était colorée et des infiltrations de fumier arrivent certainement dans le puits. 4 expériences faites à divers moments de l'été. (2 gouttes d'eau ont été seulement introduites dans la gélatine.).....	340 420 375 397	25 33 31 41
Eau d'un ruisseau coulant dans plusieurs fermes et au voisinage immédiat de tas de fumier. 3 expériences.....	417 443 392	23 22 26

Ayant remarqué que, dans la pâte de farine abandonnée pendant quelques heures à l'étuve, il existait un nombre

considérable de bacilles *mesentericus vulgatus*, ainsi que dans le son placé humide dans les mêmes conditions, après m'être assuré en employant de l'eau stérilisée pour faire mes pâtes que ces bactéries ne venaient pas de l'eau, j'ai pensé qu'elles devaient exister à l'état normal à la surface des grains de blé, aussi ai-je mis en contact une certaine quantité de grains de blé de diverses provenances avec 20 fois leur volume d'eau, j'ai fortement agité pendant quelques secondes et j'ai ensemencé deux gouttes de cette eau de lavage dans de la gélatine nutritive, j'ai ainsi obtenu les chiffres suivants :

ORIGINE DU BLÉ.	NOMBRE TOTAL des colonies.	NOMBRE DES COLONIES du bacille <i>Mesentericus vulgatus</i> .
Eau de lavage de grains de blé d'origine inconnue. — 2 expériences.....	427 413	117 108
Eau de lavage de grains de blé de Russie, pris dans la cale d'un navire au Havre. } 3 expériences.....	452 427 502	33 142 61
Eau de lavage de grains de blé d'Amé- rique, pris dans la cale d'un navire au Havre. — 3 expériences.....	525 510 421	120 103 63
Eau de lavage de grains de blé de Nor- mandie, pris au moment du battage. — 2 expériences.....	343 551	104 123
Eau de lavage de grains de blé de Nor- mandie, extraits des épis encore sur pied avec une pince flambée et mis de suite dans un tube flambé. — 3 ex- périences.....	327 280 203	104 127 103
Eau de lavage de grains d'avoine d'ori- gine inconnue. — 2 expériences.....	310 352	207 106
Eau de lavage de grains d'avoine de Nor- mandie, extraits des épis sur pied avec une pince flambée, et mis dans un flacon flambé. — 2 expériences.....	543 420	107 167

CHAPITRE III

Description du bacille.

Le bacille *mesentericus vulgatus* est un petit bâtonnet mesurant, lorsqu'il est cultivé dans le bouillon de veau nutritif, entre 2 et 4 μ . de long et 1 μ . de large, il est légèrement arrondi à ses extrémités, rarement on observe des bâtonnets isolés. Généralement il forme de très longs filaments, composés de plusieurs articles. Ces articles sont ordinairement égaux entre eux, ils forment rarement un chapelet rigide, mais sont plus ou moins inclinés les uns sur les autres, il est rare que l'angle que forment deux articles voisins ne soit pas supérieur à l'angle droit.

Pendant les premières heures du développement dans les conditions normales, il est facile, en examinant au microscope une goutte de bouillon, de voir les longs filaments que les articles forment, mais généralement après la vingtième heure, si la culture est faite aux environs de 36° (plus tard si elle est faite à une température plus basse), les filaments composés de bacilles se réunissent à la surface, forment une membrane, qui par suite de l'enchevêtrement des filaments et de la substance qui les entoure présente une remarquable solidité. Il est alors impossible d'étudier les rapports des bacilles les uns avec les autres, car il est absolument nécessaire de dissocier la *zoogée* qu'ils forment.

Les bacilles sont composés d'une enveloppe gélatineuse assez épaisse, sur laquelle nous reviendrons plus loin, à l'intérieur de laquelle existe une fine membrane appliquée directement sur le protoplasma formant le bacille.

Généralement, et mes observations sont d'accord avec cette opinion, on considère l'enveloppe gélatineuse et la membrane comme un tout formé par un hydrate de car-

bone, variété de cellulose. La membrane, visible au microscope sous la forme d'une ligne très fine, n'est que la couche interne solide de l'enveloppe gélatineuse.

A l'extérieur de la membrane solide, on aperçoit seulement, même à l'aide des plus puissants objectifs, un protoplasma généralement complètement homogène, quelquefois légèrement granuleux ou plutôt trouble. Ce protoplasma est toujours complètement incolore et se colore toujours simplement en jaune par l'iode; à aucun moment de la vie du bacille, je n'ai pu déceler dans son intérieur la présence de granules d'amidon, comme M. Van Tieghem (1) l'a vu dans le *bacillus amylobacter* et le *spirillum amyliiferum* un peu avant la formation de la spore.

La grandeur du bacille varie beaucoup suivant les milieux dans lesquels on le cultive; ainsi dans le bouillon de



Fig. 2. — Bacille *mesentericus vulgaris* cultivé dans divers milieux et coloré par la méthode de Gram. Les bacilles représentés à gauche viennent d'une culture de 24 heures dans le bouillon nutritif; ceux du milieu d'une culture de 24 heures sur la pomme de terre; ceux de droite d'une culture de 24 heures dans le lait.

veau nutritif, son volume varie comme nous l'avons dit entre 2 et 4 μ de long, quelquefois atteint même 5 μ ; sur l'amidon, les pommes de terre, sa longueur varie entre 4 μ 5 et 2 μ , son volume est très régulier; sur la gélose, son volume varie entre 1 et 3 μ ; enfin dans le lait, sa longueur varie entre 2 et 30 μ , sa largeur reste presque toujours invariable, elle est de 0,75 μ .

Souvent dans le lait les très longs bacilles s'effilent légèrement à une extrémité.

(1) Van Tieghem, *Sur le bac. amylobacter*, etc. *Bulletin de la Soc. bot. de France*, t. XXIV, p. 138, 1877 et *Développ. du spirillum amyliiferum*, *ibidem*, 1879.

La substance gélatineuse qui forme la paroi externe de ce bacille se trouve constamment quel que soit le milieu dans lequel la culture ait été faite, qu'il soit liquide ou solide. Lorsqu'on détache un fragment de la zooglée que ce bacille forme et qu'on le porte sur une lamelle de verre, dans une goutte d'eau, on éprouve une assez grande difficulté à dissocier le lambeau qu'on a détaché et on voit adhérer à l'aiguille avec laquelle on cherche à le dissocier une substance visqueuse qui s'étire en longs filaments et entraîne avec elle quelques bacilles.

L'adhérence que cette substance gélatineuse communique aux chaînettes de bacilles est si forte, qu'on peut saisir avec une pince la membrane qu'elle forme à la surface du bouillon nutritif et l'enlever d'une seule pièce, en agissant avec quelques précautions.

Il ne m'a pas paru que cette gelée fût soluble dans l'eau — soluble dans le sens d'une véritable solution ; — en effet, si on enlève une de ces membranes, qu'on la mette dans l'eau, elle ne se dissout pas, après de longues heures on retrouve la zooglée dans le même état qu'au début. Cette substance cependant est soluble dans le sens qu'elle s'hydrate assez facilement comme la gomme, la gélatine, etc., car si on jette la zooglée sur un filtre de papier, puis qu'on l'arrose avec de l'eau distillée, tiède surtout, on ne tarde pas à obtenir les bacilles débarrassés de cette substance visqueuse. On le constate facilement, car les bacilles n'adhèrent plus les uns aux autres et de plus on retrouve cette substance gélatineuse dans l'eau de lavage.

J'ai essayé de reconnaître la nature de cette substance, en faisant agir sur elle divers réactifs, elle se colore par les couleurs d'aniline, mais cette coloration ne persiste pas après le lavage à l'alcool, elle ne se colore pas par la teinture d'iode, c'est-à-dire qu'elle se contente de prendre la couleur de ce réactif, elle se laisse dissoudre par le réactif cupro-ammoniacal. Enfin, si on la fait bouillir pendant plusieurs heures avec de l'acide sulfurique très étendu, elle se transforme, autant que la faible quantité de matière que j'avais réunie m'a permis de le constater, en glucose.

Il y a donc lieu de la considérer comme une forme de

cellulose. Cette forme de cellulose, assez commune chez les bactéries, les rapproche des nostacées.

Cette substance visqueuse ne persiste pas toujours autour des bacilles, ainsi vers le troisième jour, pour les cultures faites dans le bouillon nutritif, la zoogléée formée par l'enchevêtrement des chaînes de bacilles tombe au fond du liquide, cette substance, à ce moment, paraît perdre un peu de sa force de cohésion, car la zoogléée généralement se brise seule. Lorsque les micro-organismes ont gagné le fond du ballon, elle persiste encore pendant quelque temps, 10 à 12 jours environ, à la température de 36°, car les micro-organismes conservent une forte adhérence entre eux; en effet, lorsqu'on remue le ballon on voit la masse des micro-organismes se déplacer tout d'une pièce, comme une goutte d'huile dans un liquide. Au bout de quelque temps, ce phénomène ne se produit presque plus et l'agitation du ballon montre que les micro-organismes sont séparés les uns des autres, par conséquent que la substance qui les unissait a disparu, du moins en grande partie.

La disparition de cette substance est moins rapide, lorsque la culture est faite à une température plus basse que 36°-38°, mais les mêmes phénomènes se produisent plus lentement, quoique dans le même ordre.

Nous nous contenterons de noter pour le présent que la diminution de ténacité de cette enveloppe coïncide avec l'apparition des premières spores.

Dans le bouillon, sur la gélose et dès le deuxième jour de la culture pour devenir très abondant plus tard, le bacille *mesentericus vulgatus* présente, surtout si on emploie la méthode de Gram pour le colorer, un état de son protoplasma particulier; un grand nombre de bacilles ne prennent plus la matière colorante, et si l'examen est fait avec un faible grossissement on dirait que la préparation est pleine de coques vides de bacilles.

Mais si on examine la préparation à un plus fort grossissement, au moins avec 800 ou 1000 diamètres, on reconnaît que le protoplasma de beaucoup de bacilles a subi de profondes modifications. La membrane d'enveloppe du bacille se colore bien, elle n'est point déformée, mais le

protoplasma présente ou des vacuoles qui ne colorent pas, ou, dans le bacille, on aperçoit un ou deux points se colorant seuls, tandis que tout le reste demeure incolore, l'espace non coloré n'est point vide, mais paraît être rempli par un liquide granuleux.

L'aspect que présentent les bacilles, lorsque le protoplasma se creuse de vacuoles, est tout à fait différent de celui



Fig. 3. — Divers bacilles pris dans une culture faite dans le bouillon de veau, la culture est âgée de quatre jours (3,000 diamètres) (1). Coloration par la méthode de Gram.

qu'il prend lorsque la spore se forme à son intérieur. Dans le cas où la spore se forme, on voit apparaître un point brillant, très réfringent, tandis que les vacuoles sont au contraire claires; lorsque le protoplasma se vacuolise la forme extérieure du bacille ne change pas.

Quelle est la raison de ces transformations? Il est difficile de le dire, le milieu dans lequel les bacilles sont cultivés est loin d'être épuisé, ce n'est donc pas à de mauvaises conditions vitales qu'elles doivent être attribuées; se forme-t-il dans le milieu des matières nuisibles au microbe, cela ne paraît guère probable; en effet, à côté de bacilles vacuolisés, on en trouve d'autres en plein développement, si pleins de vitalité, que si on porte dans la chambre chaude, sous le microscope, une goutte du liquide de culture, on ne tarde pas à assister à la division des bacilles.

Il nous semble que la seule opinion qu'il soit possible d'émettre est que ce sont des bacilles ayant accompli leur cercle vital et disparaissant sans former de spores.

(1) Les dessins de ces bacilles ainsi que ceux qui suivront ont été faits à la chambre claire à un grossissement de 1,500 diamètres, puis grossis deux fois afin de permettre une meilleure représentation.

CHAPITRE IV

Développement.

Pour l'étude du développement, je me suis servi de deux procédés principaux. Dans l'un j'examinais au microscope de temps en temps une culture d'une date connue. Dans l'autre, je suivais, sous le microscope et dans la chambre chaude, l'évolution de bactéries ou de spores placées dans une goutte de bouillon dans une chambre humide.

Je me suis servi pour cela d'une chambre chaude que j'ai fait connaître en 1885 et dont la figure est jointe ici : cette chambre chaude n'est qu'une étuve à température constante autorégulatrice de M. d'Arsonval, modifiée pour être appliquée au microscope.

Grâce à cette chambre chaude, il m'a été facile de suivre les diverses phases du développement.

A. *Développement par division.* — J'aurai peu à dire sur le développement par division de ce bacille ; mes observations ne font que confirmer ce que l'on sait déjà, car l'étude de la bipartition de cette bactérie, quoiqu'elle soit assez volumineuse, est rendue difficile par sa petitesse.

Lorsqu'on ajoute à une préparation d'une culture en plein développement une goutte d'une solution de teinture alcoolique d'iode, on amène une coloration et une forte rétraction du protoplasma. Cette rétraction permet de constater qu'il existe souvent, dans les plus longs bacilles, une cloison très mince (quelquefois elle m'a paru être incomplète). Cette cloison est plus ou moins épaisse, elle sépare la cellule en deux, puis s'épaissit et paraît ensuite se diviser en deux, du moins son milieu paraît être plus mou, moins dense, mucilagineux suivant une ligne transversale. La cellule mère est alors divisée en deux cellules filles.

Lorsque les cellules filles auront atteint la taille de la cellule mère, elles se diviseront en deux de la même façon.

Les bipartitions successives se font toujours dans le même sens, elles sont parallèles. Les deux bacilles formés par une cellule mère sont rectilignes ou s'inclinent plus ou moins l'un sur l'autre, mais l'angle qu'ils forment est toujours très ouvert.

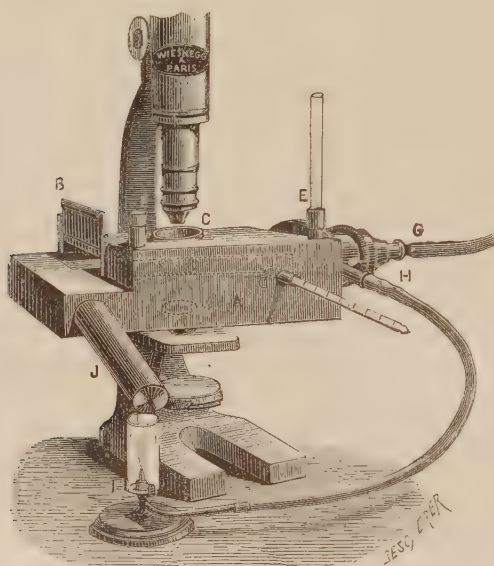


Fig. 4. — Chambre chaude à régulateur direct, montée sur un microscope. — A, chambre pleine d'eau; E, tube de verre dans lequel l'eau monte pour déterminer une pression plus ou moins forte sur la membrane du régulateur; H'C, trou permettant le passage de l'objectif. B, porte d'entrée de la chambre dans laquelle on place la préparation; J, appendice de chauffe; G, tuyau d'arrivée du gaz; H, tuyau conduisant le gaz au régulateur (dans le modèle actuel le tuyau de caoutchouc est remplacé par un tube de cuivre de sorte que le brûleur reste toujours au-dessous de l'appendice, quels que soient les déplacements de la chambre chaude).

Ces observations concordent avec ce qu'on sait de la division des grosses cellules végétales, mais elles sont bien moins complètes, nous n'avons jamais vu, comme du reste tous nos prédécesseurs, un noyau dans les cellules de ces bactéries. Cependant si nous tenons compte de la difficulté que présente l'observation de la division chez les bactéries,

on peut dire que leur mode de division est semblable à celui des autres cellules végétales.

B. *Formation des spores.* — On dit généralement que les spores ne commencent à apparaître dans les bacilles que lorsque le substratum nutritif est devenu impropre au développement, soit parce qu'il est *épuisé*, c'est-à-dire qu'il a perdu un ou plusieurs des éléments nécessaires à la vie de la bactérie, ou parce que les produits d'*excrétion* ou ceux de *décomposition* produits par la plante ont rendu le milieu défavorable à sa vie, c'est-à-dire à sa reproduction par division.

Cette manière d'envisager la formation des spores conduit à considérer la spore, comme une forme que prend le bacille pour conserver son espèce, jusqu'à ce que les circonstances le placent dans des conditions favorables pour végéter et se reproduire; il me semble qu'il y a là une erreur, la spore se forme comme la graine de beaucoup de plantes non annuelles, simplement parce qu'elle est une forme de l'évolution de ces plantes.

Si elle est plus résistante aux divers agents que le bacille, c'est que sa vie est moins active, et que, comme tous les êtres vivants, à l'état de vie latente elle présente plus de résistance que lorsqu'elle ne l'est pas. Les graines, en général, sont plus résistantes que les plantes d'où elles proviennent, les spores étant les graines des bacilles sont plus résistantes que ceux-ci, simplement parce que chez eux la vie est moins active. Je n'ai nul besoin d'insister sur ce point qui a été mis en lumière d'une façon magistrale par Claude Bernard (1) et qui est connu de tous.

Du reste la supposition qu'il faille que le milieu soit épuisé pour que les spores se forment a été démontrée inexacte par M. Van Tieghem. Ce savant, en effet, a vu que chez le *bacillus amylobacter* il n'en était pas ainsi. Les spores se montraient dans quelques cellules tandis qu'il en existait un grand nombre d'autres qui continuaient à se reproduire par division.

Le bacille *mesentericus vulgaris* présente le même phé-

(1) Cl. Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie commune aux animaux et aux végétaux*, Paris, 1873.

nomène et je dirai même qu'il le présente d'une façon très marquée.

En effet, les spores commencent chez ce bacille à se montrer dès le 4^e et le 5^e jour de la culture alors qu'elle est



Fig. 5. — Formation des spores dans le bacille *mesentericus vulgaris*. — a, bâtonnet sans spore; b, la spore commence à apparaître sous la forme d'un petit point réfringent; c, elle est plus volumineuse; d, d, d, d, quatre bacilles contenant des spores mûres; e, e', deux spores hors des bacilles.

en pleine activité (à une température de 36°-38°) et 2 ou 3 mois plus tard

lorsque le milieu a subi des modifications profondes, que nous apprendrons à connaître, on retrouve des bacilles en voie de division.

Les spores apparaissent dans ce bacille à peu près de la même façon que dans le bacille *megatherium* décrit par M. de Bary, on voit apparaître dans les bacilles au milieu du protoplasma un petit point très réfringent, le protoplasma du bacille ne change pas d'aspect, il se colore en entier par les couleurs d'aniline et la teinture d'iode. Ce point en quelques heures atteint son entier développement, il est alors légèrement ovoïde, très réfringent, a des contours très nets, à peu près la même largeur que le bacille, mais est plus court d'au moins un tiers.

Lorsque la spore formée est encore logée à l'intérieur du bacille, il est facile de s'assurer à l'aide des couleurs d'aniline ou de la teinture d'iode, que le protoplasma du bacille a disparu et que la membrane du bacille, outre la spore, ne contient qu'un liquide.

Si au lieu de rechercher l'état du protoplasma au moment où la spore est complètement formée, on le recherche pendant le temps que le point initial qui deviendra la spore grossit, on constate qu'à mesure qu'elle grandit le protoplasma se raréfie de plus en plus, cette raréfaction du protoplasma est générale, elle ne paraît pas être plus considérable autour de la spore que dans les autres points et je n'ai jamais observé dans ce bacille ce que Alf. Koch a observé chez le *bacillus ventriculus* (voir page 24).

Quelque temps après que la spore a achevé son développement (autant que j'en ai pu juger de 2 à 6 heures après) la membrane du bacille disparaît.

Lorsque la spore va se former dans le bacille *mesentericus vulgaris*, on n'observe aucun changement dans la forme du bacille, comme par exemple dans le bacille *ventriculus*, le bacille de l'œdème malin, etc., qui se renflent, soit au milieu, soit à une extrémité.

Il ne se forme qu'une seule spore par bacille, deux fois seulement j'ai vu apparaître deux spores, et encore dans un cas seulement, ces spores sont arrivées à leur maturité, les deux autres et le bacille qui les contenait disparurent sous mes yeux, sans qu'il me soit possible de décrire cette disparition autrement que comme une fonte assez rapide; en effet, elle se produisit en l'espace d'une dizaine de minutes. Le bacille et les spores devinrent troubles, ce trouble augmenta, si bien qu'on ne distinguait plus ni spores, ni bacille, puis tout disparut.

Les spores complètement mûres et libres se présentent sous la forme de petits corps ovoïdes, très réfringents, mesurant $1,2\ \mu$ de long et $1\ \mu$ de large, la paroi qui les enveloppe paraît être, si on les examine non colorées, plus épaisse aux deux pôles que dans les autres points. Il est impossible de colorer les spores, si on ne les tue pas, par un moyen quelconque. faire agir sur elles par exemple de l'alcool contenant du bichlorure de mercure, etc., mais le moyen le plus pratique est la chaleur, on peut les chauffer pendant 20 ou 30 minutes aux environs de 180° - 200° , mais il est plus pratique de passer 7 à 8 fois le couvre-objet sur lequel on a fait sécher quelques spores dans la flamme d'un bec de Bunsen.

Après leur mort, les spores se laissent très bien colorer, quoiqu'un peu lentement, par les solutions aqueuses des couleurs d'aniline, la méthode de Gram permet d'obtenir de très belles préparations entièrement débarrassées de toutes les granulations étrangères.

Les spores simplement séchées à une basse température sur un couvre-objet, et mises dans une solution de couleur d'aniline, surtout de violet de gentiane, laissent leur enveloppe se colorer faiblement, mais le reste de la spore demeurant complètement incolore, cette coloration de la membrane externe de la spore permet de reconnaître que la plus grande épaisseur que la paroi de la spore paraît

présenter aux deux pôles est due à des phénomènes de réfringence.

Dans certaines conditions, les spores se forment plus facilement que dans d'autres, un moyen rapide d'en obtenir un grand nombre consiste à cultiver ce bacille sur des tranches de pommes de terre cuites, n'ayant pas plus d'un centimètre d'épaisseur. Cultivées sur ce milieu, les spores commencent à apparaître dès le huitième jour, vers le quatorzième on ne trouve que quelques rares bacilles, et ceux-ci ne tardent pas à disparaître complètement.

C. *Germination des spores.* — L'étude de la germination des spores est entourée de grandes difficultés; en effet, l'objet est excessivement petit, puis l'observation est rendue difficile par le fait qu'il est nécessaire de suivre autant que possible pendant plusieurs heures la même spore.

Pour cette étude, j'ai employé deux moyens, dans le premier cas, je suivais au microscope, dans la chambre chaude, la germination d'une spore contenue dans une goutte de bouillon suspendue à un couvre-objet au-dessus d'une cellule. Pour contrôler les observations que je faisais ainsi, je plaçais des spores seules dans un tube de bouillon qui lui-même était placé à l'étuve à 36°, et tous les quarts d'heure je prélevais une goutte de ce bouillon, que j'étendais sur une lamelle et que je colorais; je crois être arrivé par ces deux procédés à connaître d'une façon assez exacte, la germination des spores. Toutefois je dois dire que l'emploi de ces deux moyens combinés ne m'a pas permis de voir ce que d'autres auteurs décrivent d'une façon fort explicite, car le volume des spores de ce bacille est, comme nous l'avons vu, excessivement petit, 4 μ , de plus la spore est presque sphérique, de sorte qu'il est difficile de voir par quel point sort le jeune bâtonnet.

Mais avant d'exposer le résultat de mes observations, je dois signaler l'opinion des savants qui se sont occupés de cette question.

La germination des spores est encore assez obscure, l'accord est loin d'être encore fait sur ce point : ainsi de Bary dit que les spores du bacille *megatherium* (bacille qu'il a observé sur des feuilles de choux cuits), lorsqu'elles vont germer, commencent à perdre leurs contours som-

bres et leur forte réfringence, puis qu'elles augmentent de volume jusqu'à atteindre la largeur des bâtonnets. Lorsqu'elles ont atteint ces dimensions, le bacille sort hors de la spore par l'un des côtés.

Dans le bacille *subtilis*, toujours d'après de Bary, la croissance du bacille dans la spore se fait dans le sens du grand diamètre de la spore, puis ce bourgeon initial, après avoir atteint une certaine longueur, fait brusquement un coude à 90° et sort à angle droit avec l'axe de la spore.

Prazmowski soutient un avis plus éclectique : le jeune bacille sort par une extrémité de la spore, dans certaines espèces, par un des côtés dans d'autres. Ainsi chez le *bacillus amylobacter* au moment de la germination, à l'une des extrémités des spores le double contour de la membrane disparaît, et le prolongement germinatif apparaîtrait dans ce point, de sorte que l'axe longitudinal du bacille coïnciderait avec l'axe longitudinal de la spore.

Tout autre est, d'après le même auteur, la germination du bacille *subtilis*. Les spores perdent d'abord leur aspect foncé, et dans le milieu de la spore on voit apparaître une zone plus claire. Cette zone grandit peu à peu et on voit apparaître à l'un des côtés de la spore un prolongement à l'extrémité duquel se fait l'ouverture de la membrane, par laquelle passe le bourgeon. Le bourgeon sort, s'allonge en bâtonnet, son extrémité postérieure tient à la spore vidée qui y adhère sous forme de vésicule.

D'après Watson-Cheyne et Chesire (2), lorsque la spore du *bacillus alvei* va germer, il se produit un allongement progressif de la spore à l'un de ses deux pôles, de

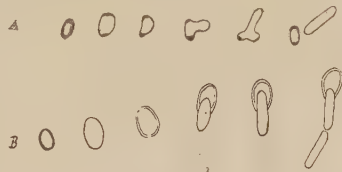


Fig. 6. — A, germination des spores du bacille *subtilis*. — Stades successifs de la germination (figure empruntée à Prazmowski) (1). — B, germination des spores du bacille *amylobacter*, stades successifs de la germination (figure empruntée à Prazmowski, 1,020 diamètres).

(1) Prazmowski, *Unters. üb. d. Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien*. Leipzig, 1880.

(2) Chesire et Watson-Cheyne, *Journal of Royal microscop. Soc.* 1885.

sorte que le mode de germination de ce bacille se rattache à celui du bacille *amylobacter*.

Dans le courant de l'année dernière Alfred Koch (1) a publié un assez long mémoire, sur la manière dont les bacilles forment leurs spores et germent des spores. Il a étudié 6 espèces, le *bacillus carotarum*, le *bacillus tumescens*, le *bacillus brassicæ*, le *bacillus inflatus*, le *bacillus ventriculus*, le *bacille alvei* (Cheyne et Chesire). D'une façon générale, cet auteur accepte la manière de voir de de Bary, il la complète et entre dans plus de détails.

Lorsque la spore va apparaître, le bacille généralement se renfle à une extrémité ou au milieu, puis la spore apparaît sous la forme d'un petit corps ovoïde très réfringent, et il



Fig. 7. — Deux cellules du *bacillus ventriculus* renflées avec des spores. Chaque spore est entourée d'une zone claire, 2,400 grossissements (figure d'après Al. Koch).

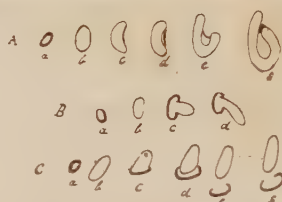


Fig. 8. — Divers états de développement des bacilles hors des spores. — A, B, différents états que présentent les bacilles en sortant de deux spores du *bacillus carotarum*; C, divers états de développement d'un bacille (*bacillus tumescens*) hors d'une spore (figures d'après Alf. Koch).

se forme autour d'elle un espace clair, il semble que le protoplasma s'est retiré de ce point. Ce phénomène, d'après Alf. Koch, s'observe très bien sur le *bacillus ventriculus* dont nous reproduisons la figure, car chez lui le renflement est exagéré.

Chez tous les micro-organismes observés par Alf. Koch le bacille sort de la spore par une ouverture située sur le petit diamètre, dans les 6 espèces étudiées par cet auteur il n'y a pas eu une seule exception, du reste nous reproduisons ici une partie des figures données par cet auteur.

M. Balbiani, qui s'est occupé du développement des bacilles aux dépens des spores, a bien voulu me faire connaître les résultats de ses recherches et me permettre de les publier ici.

(1) Alfred Koch, *Ueber Morphologie und Entwicklungsgeschichte einiger endosporen Bacterienformen*, *Botanische Zeitung*, n° 18, 19, 20, 21, 22, 1888.

En portant pendant quelque temps à l'ébullition une infusion de foin, comme on le recommande afin de détruire tous les germes que celui-ci contient, sauf les spores du bacille *subtilis*, il a reconnu des spores, donnant trois formes différentes de bacilles.

Ces trois sortes de spores sont ovales, elles donnent toutes les trois des bacilles qui sortent par un des pôles, jamais le savant professeur n'a vu une germination latérale, comme celle décrite par Prazmowski pour le bacille *subtilis*, de Bary, Alf. Koch, etc., les observations de M. Balbini se rapprochent donc de celles que Prazmowski a faites sur le bacille *amylobacter*.

La petitesse des spores du bacille *mesentericus vulgaris* rend fort difficile l'étude du développement du bacille et je dois avouer que quoique j'aie passé de longues heures à suivre le développement de ses spores, après les avoir suspendues dans une goutte de bouillon placée dans la chambre chaude, le résultat de ces observations a été entièrement négatif. La petitesse des spores, leur volume presque sphérique ne permettent pas de voir si la spore sort par le côté ou l'extrémité. M. Balbiani a bien voulu examiner des spores que je lui avais remises et pense avec moi que l'étude de leur germination est à peu près impossible.

L'examen de préparations séchées et colorées m'a donné de meilleurs résultats, cependant je ne puis être bien affirmatif et je ne les donne que sous les plus grandes réserves.

Si on place des spores ensemencées dans du bouillon nutritif à l'étuve à 36°, au bout de deux ou trois heures elles commencent à germer. Mais avant de le faire, les spores augmentent d'une façon notable de volume et elles deviennent moins réfringentes, dans cet état elles se colorent mal même après chauffage à une température élevée.

Il m'a semblé qu'à un des pôles on voit apparaître une petite proéminence, sous la forme d'une calotte, celle-ci se colore en bleu, tandis que le reste de la spore reste incolore, cette proéminence s'élève petit à petit en restant dans l'axe longitudinal de la spore jusqu'à ce qu'elle ait pris une forme bacillaire fort nette. Puis petit à petit le bacille s'élève dans la spore et la quitte en laissant une membrane vide.

La membrane vide de celle-ci reste assez souvent pendant quelque temps fixée à l'extrémité du bâtonnet, même

lorsque celui-ci s'est divisé en deux pour donner naissance à deux bacilles.



Fig. 9. — Spores du bacille *mesentericus vulgatus* à divers états de germination.

— *a*, spore; *b*, spore sur le point de germer; *c*, spore à l'un des pôles de laquelle apparaît le bacille sous forme d'une petite calotte; *d*, *e*, *f*, spore s'élevant de plus en plus dans la spore; *g*, *h*, *i*, bâtonnet complètement développé mais auquel la membrane de la spore vide adhère encore.

Tel est le résultat de mes observations, il m'a toujours semblé, autant que la petitesse des spores m'a permis d'en juger, que le bacille sortait par un des pôles de la spore, jamais par une des extrémités.

D'après l'ensemble de ces caractères, direction du cloisonnement, forme, et de ses propriétés que nous ferons connaître plus loin, le bacille *mesentericus vulgatus* doit être classé, si nous adoptons la classification provisoire de M. Van Tieghem parmi les *bacilles ferments endosporés*, dans la classification de Bary il appartiendrait simplement à la famille des *bactéries endosporées*.

CHAPITRE V

Caractère des cultures dans les milieux usuels.

Les caractères que nous venons de donner du bacille *mesentericus vulgatus* permettent sans doute de le distinguer des formes qui en approchent, mais pour le faire, il est nécessaire de faire une série d'observations assez délicates et longues.

Depuis quelques années, on emploie avantageusement pour isoler et reconnaître assez rapidement les unes des autres les bactéries, les cultures dans divers milieux, surtout sur les milieux solides. Car sur ces milieux on observe facilement les attributs particuliers, les signes caractéristiques de chaque colonie de bacilles.

Ces signes distinctifs des colonies pures, généralement facilement visibles à l'œil nu, permettent un diagnostic plus facile que celui que donne l'emploi du microscope, il est en tout cas entouré de moins de difficulté.

J'avoue que même à l'heure actuelle j'éprouve quelque difficulté à distinguer au microscope le *bacille mesentericus vulgaris* du *bacille subtilis* ou du *thyriotrix tenuis*, tandis qu'une culture faite sur de la gélatine nutritive lève presque tous mes doutes.

Aussi donnerai-je ici les caractères de ce bacille sur les principaux milieux, sans m'inquiéter pour le présent des produits qu'il forme dans ces milieux.

Cultivé sur la gélatine nutritive étendue en plaque, le bacille *mesentericus vulgatus* forme au bout de 24 heures, si la culture est faite à une température comprise entre 18° et 20° centigrades, une petite tache blanche, opaque, arrondie, s'élevant fort peu au-dessus de la gélatine; au bout de quarante-huit heures, la tache blanche s'est entourée d'une zone plus claire presque transparente formée de la

gélatine liquéfiée et de filaments du bacille; des bords de cette zone nettement découpés partent, comme une auréole, un grand nombre de fins filaments qui suivent la direction des rayons et donnent à la tache un aspect fort caractéristique. Les jours suivants les colonies s'étendent beaucoup en conservant le même aspect, et si elles sont un peu nombreuses, en trois ou quatre jours elles ont envahi toute la plaque.

Ensemencé par piqûre dans un cylindre de gélatine nutritive à 10 p. 100, ce micro-organisme se développe très rapidement, il forme en 48 heures dans la gélatine un



Fig. 10. — Tube de gélatine peptonisée ensemencé par piqûre avec le bacille de la pomme de terre; *a*, entonnoir formé par la gélatine liquéfiée; *b*, grumeaux blancs opaques formés par des filaments du bacille.

fort élégant entonnoir, qui s'étend jusqu'à la partie inférieure de la piqûre; cet entonnoir est rempli par de la gélatine liquéfiée un peu blanchâtre, contenant à son centre, le long de la ligne d'ensemencement, des grumeaux plus opaques et plus denses : ces grumeaux se remarquent surtout dans le fond de l'entonnoir.

Le 4^e jour, l'entonnoir a disparu, car la gélatine est ramollie dans toute l'étendue qui a été traversée par l'aiguille d'ensemencement : la gélatine ramollie est toujours blanchâtre et contient encore des grumeaux opaques; à sa surface, on voit une belle membrane plissée d'un aspect crémeux. Les jours suivants rien n'est changé dans l'aspect de la culture, sauf que la partie non ramollie de la gélatine disparaît petit à petit.

Cultivé sur la gélose nutritive si l'ensemencement a été fait à l'aide d'une aiguille de platine traînée à la surface, et que le tube ait été maintenu à une température de 36-38° il se développe une série de colonies blanchâtres arrondies à bords festonnés, les dentelures des bords se retrouvent même sur les plus petites colonies.

Beaucoup de colonies ont, dans ce court espace de temps, atteint presque 1 centimètre de diamètre et sont

confondues par leurs bords, elles forment un très léger relief à la surface de la gélose. Le lendemain les colonies couvrent toute la surface de la gélose d'une pellicule blanchâtre, opaque, finement chagrinée; lorsqu'on essaye de dissocier la pellicule avec une aiguille de platine, on éprouve une certaine difficulté à la détacher; un fragment placé dans une goutte d'eau sur une lame de verre s'étale mal, forme autour de l'aiguille une masse visqueuse qui se laisse étirer en longs filaments.

La pellicule ne s'étend plus sur la gélose qu'on a dénudée de la culture, pour le présent, nous nous bornerons à enregistrer le fait sans chercher si c'est parce que le bacille a enlevé à la gélose nutritive des matériaux nécessaires à sa nutrition ou y a ajouté une substance qui lui est nuisible.

Ensemencé dans du bouillon de veau neutralisé peptonisé ou non, le micro-organisme forme, en quarante-huit heures, une belle membrane à la surface du liquide. Durant les premières heures de l'ensemencement, le bouillon est trouble; vers la vingtième environ, la culture étant faite entre 36 et 38°, la membrane commence à apparaître. Elle est d'abord très mince et lisse, elle épaisse rapidement et en même temps se plisse fortement, les plis sont excessivement nombreux. A la quarante-huitième heure elle est blanchâtre; les jours suivants elle augmente d'épaisseur, les plis s'accusent de plus en plus, si bien que vers le huitième jour son aspect rappelle les cavités cardiaques, les plus grosses travées formées par les plis sont brunâtres, les petites jaunâtres. Outre les travées, on aperçoit de gros mamelons.

A mesure que la membrane se forme à la surface, le bouillon, qui était trouble, s'éclaircit de plus en plus et devient complètement transparent vers la vingt-quatrième ou vingt-sixième heure; vers le huitième jour il est légèrement brun.

La membrane ou zoogée de la surface tombe alors au fond du ballon; si on le laisse à l'étuve, le bouillon brunit de plus en plus, les micro-organismes réunis dans le fond restent blanchâtres, adhèrent fortement entre eux, de sorte que si on remue le ballon, ils se déplacent tous ensemble comme le ferait une goutte d'huile.

Le bacille *mesentericus vulgatus* se cultive très bien dans le bouillon de veau acidifié au 1/2000° par l'acide chlorhydrique et pendant un si grand nombre de générations successives qu'il n'y a pas lieu de penser que les milieux faiblement acides lui soient très défavorables. La membrane qu'il forme à sa surface est moins plissée et d'une couleur plus claire que celle qu'il avait dans le bouillon neutre.

Ensemencé dans du bouillon de veau additionné de 2 à 5 0/0 de sucre de raisin, la membrane ou zoogée qui se forme à la surface est plus finement plissée que celle qui se développe sur le bouillon ordinaire; en même temps elle est plus blanche, et du moins pendant les quatre ou cinq premiers jours on dirait qu'elle a été saupoudrée avec de la farine de riz.

Ensemencé dans du bouillon de veau additionné de 10 0/0 de gélatine, ce micro-organisme forme à la surface, en quarante-huit heures environ, une belle membrane, qui cependant n'est jamais aussi aréolaire que celle qui se développe sur le bouillon de veau, mais a presque le même aspect, sauf qu'elle devient, au bout d'une dizaine de jours de culture, jaunâtre au lieu de brun jaunâtre; comme nous l'avons dit, il enlève à la gélatine le pouvoir de se solidifier.

Dans le bouillon additionné de 10 à 15 0/0 de sucre (saccharose) le bacille *mesentericus* se développe très bien, il ne forme pas une membrane épaisse comme sur le bouillon ordinaire, mais le trouble fortement. A la surface du liquide on voit apparaître une membrane mince, nullement plissée, qui persiste pendant une dizaine de jours ainsi que le trouble du bouillon. Ce n'est qu'au bout de ce temps que le bouillon commence à s'éclaircir et en même temps la membrane à devenir plus épaisse par place.

Le bouillon ne devient absolument clair que vers le quinzième ou vingtième jour, il ne brunit que vers le trentième ou trente-cinquième jour; pendant tout le temps de la culture, même lorsqu'elle est trouble, il est impossible de percevoir la moindre odeur.

Sur les pommes de terre stérilisées par la méthode de R. Koch, ou plus simplement en stérilisant sous une

cloche à l'autoclave des tranches plus ou moins épaisses de ce tubercule, le bacille *mesentericus vulgaris* se développe d'une façon absolument caractéristique. Au bout de 24 heures si l'ensemencement a été fait, même par une simple piqure à la surface de la tranche, on le voit former une zone d'une grande étendue variant entre 1 et 3 centimètres de diamètre, la culture étant faite à 36°-38°. La culture qui est à la surface de la pomme de terre est d'un blanc grisâtre, très plissée, et souvent on aperçoit à sa surface de petites gouttelettes d'eau. Cette culture adhère fortement au tissu sous-jacent de la pomme de terre, si on essaye de la soulever on n'y réussit pas. La substance gélatineuse qui entoure les bacilles est très développée dans ces cultures.

Généralement quarante-huit heures après l'ensemencement la culture couvre toute la surface de la pomme de terre. Les plissements de la zooglée sont plus accusés, sa couleur reste la même qu'à la vingt-quatrième heure.

Vers le quatrième jour la culture perd sa couleur blanc grisâtre pour brunir légèrement; en même temps, les plis de la zooglée deviennent moins nets, les saillies et les creux tendent à prendre le même niveau, elle revêt en même temps un aspect plus humide.

Vers le sixième jour, la surface de la culture est brun sale, les saillies et les creux n'existent pour ainsi dire plus, elle a un aspect très humide, je ne puis que comparer son aspect à celui d'une couche assez épaisse de crème de chocolat.

La culture ne pénètre pas profondément dans le tissu de la pomme de terre, si on examine une coupe transversale on voit qu'elle n'a pas dépassé les trois ou quatre premiers millimètres. La couleur brune qu'offre la culture n'a pas non plus pénétré davantage.

L'amidon de la pomme de terre est transformé rapidement en glycose; dès la vingt-quatrième heure, mais plus abondamment après la quarante-huitième heure, si on racle la surface de la pomme de terre en dessous de la culture, on obtient, en faisant bouillir le produit du raclage avec de la liqueur de Fehling, un abondant précipité d'oxyde de cuivre.

Sans grande espérance de succès, j'ai essayé de cultiver le bacille *mesentericus vulgaris* sur des tranches de pommes de terre crues et, à mon grand étonnement, je dois le dire, j'ai constaté qu'il s'y cultivait mieux que sur les pommes de terre cuites; de plus, cette tentative dont je n'attendais pas grand'chose m'amena à trouver plusieurs faits intéressants dont je parlerai plus loin.

Ce bacille se cultive sur toutes les pommes de terre crues, qu'elles soient de fin de saison ou nouvelles, cependant les pommes de terre nouvelles, riches en protoplasma, lui sont surtout favorables.

Souvent au bout de vingt-quatre heures, même si le point d'ensemencement est une simple piqûre, il forme une zoogée ayant entre 2 et 4 centimètres de diamètre; cette zoogée se présente sous la forme d'une membrane semi-transparente, fortement plissée, plus fortement que sur les pommes de terre cuites; à la quarante-huitième heure, si la culture n'a pas couvert toute la surface de la section dès la vingt-quatrième, elle est toujours envahie par la zoogée, qui offre le même aspect qu'à la vingt-quatrième heure, sauf en ce que les plis sont plus accusés.

Le quatrième jour la membrane devient d'un brun sale, les saillies et les creux sont moins accusés, elle offre un aspect humide très marqué. La pomme de terre est si ramollie qu'elle s'écrase si on la presse même légèrement entre les doigts. Sur une coupe, on constate que dans presque toute son épaisseur le parenchyme du tubercule a perdu en même temps que sa consistance sa couleur blanc jaunâtre et qu'il est devenu d'un brun sale, humide.

Les jours suivants, la membrane que forme la culture brunit encore, les saillies disparaissent complètement, la pomme de terre s'affaisse si l'air de la cloche est assez humide pour qu'elle ne se dessèche pas.

Parmi les ferments des matières albuminoïdes décrits par M. Duclaux, il s'en trouve un qui a particulièrement attiré notre attention, c'est le *tyrothrix tenuis*, à cause des

nombreux points de ressemblance qu'il présente avec le bacille *mesentericus vulgatus*.

Ensemencé dans du lait exposé en grande surface, ce microbe se développe sous la forme de petits bâtonnets grêles, cylindriques, très légèrement granuleux dans leur intérieur, ayant $0\ \mu\ 6$ de largeur et une longueur variable pouvant descendre jusqu'à $3\ \mu$. Quand il se segmente, on observe fréquemment un coude sur la ligne de jonction. Lorsque plusieurs articles sont réunis en chaîne, ils se meuvent, mais le mouvement est plus saccadé et plus lent que lorsqu'ils ne le sont pas.

Le bâtonnet peut s'allonger beaucoup sans se segmenter, et donner des fils dont la longueur égale 2 ou 300 fois la largeur. Dans le bouillon de Liebig, ces fils flottent à l'intérieur du liquide et donnent en quelques heures des flocons visibles à l'œil nu. Dans le lait ils se réunissent à la surface; en s'enchevêtrant ils y forment une pellicule plissée qui n'est jamais très solide. Car les bâtonnets s'y divisent rapidement en bâtonnets et dans chacun naît une spore ovoïde. Le lait sous l'influence de ce bacille subit les modifications suivantes. D'abord il se coagule, mais le coagulum est plus mou que celui qui se forme sous l'influence de la présure de veau. Il se dissout peu à peu en commençant par les couches supérieures et se transforme en un liquide opalescent.

Il sécrète donc une présure et une caséase. Le lait dans lequel ce microbe a été cultivé, mis en contact avec du lait, encoagule 120 volumes. Il dissout également le coagulum formé.

Le lait dans lequel on a cultivé ce microbe contient en quelques jours beaucoup de diastases. Mais elles disparaissent plus tard, même si on les a séparées des microbes à l'aide d'une filtration à travers un vase poreux.

Le liquide qui fut du lait en vieillissant devient un peu gélatineux, M. Duclaux croit qu'on doit l'attribuer à la production, aux dépens de la matière albuminoïde, d'une sorte de gélatine qui empâte le tout. C'est à ce moment où le liquide est le plus riche en caséase, la présure peut avoir disparu.

Le *tyrothrix tenuis* ne se développe pas dans l'acide

carbonique, mais si peu qu'il soit mélangé à de l'oxygène il se développe.

Le microbe respecte le sucre de lait, il n'attaque pas non plus la glycérine, le lactate de chaux ou le glucose. Il vit péniblement dans le petit lait et l'urine.

Il se développe dans la caséine précipitée, remise en suspension dans de l'eau additionnée de sels minéraux. Il la redissout et la transforme. Cette redissolution de la caséine est due à une caséase; elle redissout également la fibrine et l'albumine coagulée. Elle est sans action sur l'urée, elle n'intervertit pas non plus le sucre.

La résistance de ce microbe à la chaleur est grande : dans un liquide neutre il résiste à 90° et 95°, lorsque le liquide est alcalin, il peut résister à 100°. En spores dans un liquide alcalin, il résiste à 115°. C'est entre 25° et 35° que son développement est le plus rapide.

Comme on le voit par le court résumé que je viens de faire des travaux de M. Duclaux sur le *tyrothrix tenuis*, ce micro-organisme présente de nombreux points de ressemblance avec le bacille *mesentericus vulgatus*; comme je pensais qu'il était peut-être le même et que les différences qu'on voit entre ces deux micro-organismes pouvaient bien tenir à ce que nous n'avions pas expérimenté exactement dans les mêmes conditions, je me suis adressé à M. Duclaux pour qu'il eût la bonté de me donner un échantillon de *tyrothrix tenuis*, afin que je pusse faire des études comparatives en le cultivant dans divers milieux comparative-ment au bacille *mesentericus vulgatus*. M. Duclaux, avec la plus grande amabilité, se rendit à mon désir et en même temps m'avertit que quoiqu'il ressemblât beaucoup au *Heubacillus* et au bacille *subtilis*, il avait acquis la conviction qu'il n'était pas le même.

Je fis une série de cultures comparatives, et de l'ensemble de mes observations, que je ne puis rapporter au long ici, j'ai acquis la conviction que le *tyrothrix tenuis* et le *mesentericus vulgatus* ne sont pas le même micro-organisme, quoiqu'ils soient très voisins l'un de l'autre et se rapprochent par beaucoup de leurs propriétés.

Le *tyrothrix tenuis* est généralement plus volumineux que le *mesentericus vulgatus*; dans le bouillon de Liebig

ce dernier ne forme jamais de flocons comme le premier ; la pellicule plissée formée par les deux à la surface du bouillon est presque semblable, cependant celle du *tyrothrix tenuis* est moins plissée que celle que forme le *mesentericus*, enfin le *tyrothrix tenuis* cultivé pendant longtemps n'amène jamais une coloration aussi foncée de ces milieux de cultures que le *B. mesentericus vulgaris*. — Cultivés tous les deux dans le lait, le *tyrothrix tenuis* ne présente pas d'aussi fortes différences dans la longueur de ses articles que le bacille *mesentericus vulgaris*, enfin le dernier est toujours immobile.

Cependant je ne saurais trop le répéter, ces deux bacilles sont très voisins l'un de l'autre, et quoique je pense qu'ils soient différents, ce n'est qu'avec la plus grande réserve que je me prononce dans ce sens.

CHAPITRE VI

Action de la chaleur et des substances dites antiseptiques.

Le bacille *mesentericus vulgatus* sous la forme bacillaire se développe relativement assez bien à la température du laboratoire, c'est-à-dire entre $+ 16^{\circ}$ et $+ 20^{\circ}$; à une température inférieure à $+ 10^{\circ}$ il se développe très peu, quoique je l'aie gardé ainsi pendant quinze jours; entre $+ 10^{\circ}$ et $+ 16^{\circ}$, il se développe, mais très lentement.

De $+ 20^{\circ}$ à $+ 41^{\circ}$ il se développe excessivement rapidement, la température optimum paraît être comprise entre $+ 34^{\circ}$ et $+ 41^{\circ}$. A partir de $+ 41^{\circ}$ jusqu'à $+ 49^{\circ}$, il se développe de plus en plus lentement, à $+ 49^{\circ}$ la culture met 5 à 6 jours pour prendre l'aspect d'un voile mince.

A partir de $+ 50^{\circ}$ jusqu'à 88° , il ne se développe pas.

De $+ 50^{\circ}$ à 75° , si on le place ensuite à une température inférieure il se développe; donc il n'était pas tué à ces températures, mais sa vie était simplement suspendue.

Entre $+ 75^{\circ}$ et $+ 88^{\circ}$, suivant qu'il a été maintenu un temps plus ou moins long à cette température, il se développe ou ne se développe pas; généralement, pour empêcher qu'il ne se développe, il faut le chauffer au moins pendant 3 heures; à $+ 58^{\circ}$ il se développe, chauffé pendant 1 heure; à $+ 65^{\circ}$ il ne se développe pas.

Chauffé à $+ 90^{\circ}$ pendant 20 minutes, il ne se développe pas; si le chauffage dure seulement 10 minutes souvent il se développe, la moitié des cas environ.

Si on chauffe les bacilles hors de la présence de l'air, il faut élever la température jusqu'à $+ 92^{\circ}$ pour les tuer.

Quant aux spores humides, il faut au moins une température de $+ 115^{\circ}$ pour les tuer en 10 minutes; en pré-

sence de l'air, on est absolument sûr de leur mort après 15 minutes.

Pour les spores humides, hors de la présence de l'air, il faut élever, pour les tuer, la température jusqu'à $+ 125^{\circ}$ et la prolonger pendant 15 minutes; si la température est maintenue moins longtemps, pendant 10 minutes, il n'est pas rare de les voir se développer (6 fois sur 10).

Les spores sèches, chauffées en présence de l'air, nécessitent une température de $+ 150^{\circ}$ pendant 20 minutes pour être tuées.

Quant aux spores sèches hors de la présence de l'air, il faut élever la température à $+ 160^{\circ}$ pour les tuer.

Comme on le voit, ce micro-organisme sous la forme de bacille ou de spore est un des plus résistants que nous connaissions; l'oxygène de l'air joint à la chaleur paraît jouer un certain rôle sur sa vitalité; l'action de la chaleur en présence de ce corps n'est donc pas due à une simple coagulation du protoplasma.

Ces résultats sont d'accord avec ceux que M. Roux a obtenus avec la bactériodie charbonneuse (1).

Il me paraît nécessaire de dire quelques mots du dispositif expérimental que j'ai employé pour étudier l'action de la chaleur, car des erreurs sont facilement commises dans ce genre d'expérience.

Pour les températures inférieures à $+ 10^{\circ}$, je me contentais de placer un tube à culture renfermant du bouillon nutritif dans une cuve dans laquelle je mettais de temps en temps un bloc de glace, les températures maxima et minima étaient notées à l'aide de deux thermomètres à index.

Pour les températures comprises entre $+ 10^{\circ}$ et $+ 16^{\circ}$, mon tube à culture nageait dans une grande cuve dans laquelle coulait constamment un filet d'eau de Seine; les maxima et les minima étaient également notés à l'aide de thermomètres à index.

Pour les températures de $+ 16^{\circ}$ à $+ 20^{\circ}$, les tubes à cultures étaient simplement placés dans la chambre, les températures extrêmes notées à l'aide des thermomètres à index.

(1) Roux, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888.

Les températures de $+ 20^{\circ}$ à $+ 41^{\circ}$ étaient facilement obtenues à l'aide de l'étuve de d'Arsonval.

Pour les températures comprises entre $+ 41^{\circ}$ et $+ 70^{\circ}$, je me suis servi d'une étuve à eau, dont la température était maintenue fixe à l'aide d'un régulateur de Bunsen plus grand que ceux qui sont d'un usage courant et dont la chambre à air était remplie de vapeur d'un mélange d'alcool et d'éther.

Pour les températures comprises entre $+ 70^{\circ}$ et $+ 100^{\circ}$, je me servais du régulateur électrique de M. Regnard (1) et lorsqu'il s'agissait de déterminer la température amenant la mort du bacille après un temps très court, au lieu de le placer dans un tube à culture ordinaire, pour que toutes les portions du liquide fussent chauffées également et amenées de suite à la température essayée, j'aspirais un peu de liquide contenant le bacille dans de petites ampoules de verre soufflées ayant la forme ci-jointe. Pour étudier l'action de la privation de l'air jointe à la température, au lieu de laisser une certaine quantité d'air dans l'ampoule et de la laisser ouverte, je fermais à la lampe le tube au point *a*.

Pour les températures supérieures à $+ 100^{\circ}$, je me suis servi d'un bain de chlorure

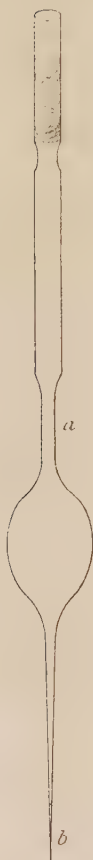


Fig. 11. — Pippetrenflée en ampoule pour l'étude de l'action de la chaleur sur le bacille *mesentericus vulgaris* et ses spores.

(1) Je n'ai eu qu'à me louer pour ces expériences du régulateur de Regnard; j'y avais apporté une modification légère, mais assez utile. Son principal défaut est qu'à la longue, sous l'influence de l'étincelle électrique qui se produit à l'ouverture et à la fermeture du courant, le mercure se couvre d'une couche d'oxyde qui empêche souvent le passage du courant au moment précis: j'ai alors fait construire un gros thermomètre ouvert comme ceux de M. Regnard, mais sans graduation, j'appréciai la température à l'aide d'un second thermomètre placé dans le

bain et j'enfonçai dans le premier ma tige de platine jusqu'au contact de la colonne de mercure, lorsque la température voulue était atteinte. L'avantage de cette disposition est que la profondeur à laquelle il faut enfoncer la tige de platine est indépendante de la température vraie, et qu'il est facile d'enlever l'oxyde de mercure et même un peu de mercure sans dérégler l'instrument.

de calcium dont la température était réglée à l'aide d'un régulateur électrique de Regnard, et pour les essais humides, j'étais naturellement obligé de fermer à la lampe mes ampoules; et quant aux essais secs, après avoir introduit dans mes pipettes-ampoules un peu de liquide chargé de spores, je desséchais le liquide dans le vide en présence de l'acide sulfurique. Pour les essais en présence de l'air, il suffisait d'introduire les pipettes dans le bain, mais pour les essais sans air, je chassais celui-ci en faisant passer à travers le coton un courant d'hydrogène, puis en fermant d'abord l'extrémité *c*, puis en étirant le tube en *b*. Pour les essais humides à des températures supérieures à $+ 100^{\circ}$, il est nécessaire de ne pas faire les ampoules trop minces, surtout de ne pas trop étirer les tubes les terminant, mais de leur laisser au contraire une certaine épaisseur, sans cela sous l'influence de la tension extérieure ils se brisent.

Afin d'assurer la complète immersion des ampoules dans le bain, je les lestais avec du plomb avant de les y plonger. Tous ces essais ont été faits avec les bacilles développés dans des milieux neutres, les milieux dans lesquels on prenait les spores étaient devenus alcalins, par suite de la culture.

Cette bactérie ne présente pas seulement une résistance très grande à la chaleur, elle exige, pour être détruite par les substances dites antiseptiques, une dose de ces substances généralement plus élevée que celle qui produit le même effet sur les autres bactéries.

Les substances essayées ont toutes été introduites dans un milieu identique, car la composition du substratum nutritif peut faire varier, dans une certaine mesure, l'action de ces substances.

Mon milieu était composé de 1,000 grammes de bouillon de veau préparé à chaud, de 10 grammes de peptone, de 5 grammes de chlorure de sodium, de 5 grammes de phosphate tribasique de potasse et d'une quantité *x* de carbonate de soude, juste suffisante pour en amener la neutralisation. Il renfermait 2^{gr},37 de matières séchées à 100° pour 100 grammes; il était stérilisé à 115° pendant 20 minutes avant l'introduction des substances antiseptiques.

Pour connaître quelles étaient les doses qui empêchaient et retardaient le développement, voici comment je procédai : après avoir introduit dans mes ballons la substance dont je voulais étudier l'action, je les ensemençai à l'aide d'une goutte d'une culture âgée de vingt-quatre heures et faite dans du bouillon neutralisé et peptonisé.

Pour connaître la dose qui arrêtait le développement, j'ensemenciai mes ballons de la même façon : huit heures après, j'ajoutai les substances. Ce laps de temps de huit heures était suffisant pour que le bouillon fût devenu très trouble, indice certain qu'une culture débutait.

Aussitôt après leur ensemencement, les ballons étaient placés dans une étuve à 36°-38° et y étaient maintenus pendant toute la durée de l'expérience.

Lorsque les substances étaient très volatiles, comme l'alcool, l'essence de moutarde, le brome, je plaçais par-dessus le tampon de coton fermant le ballon une capsule de caoutchouc, afin d'éviter la volatilisation d'une partie de la substance.

Tableau I.

SUBSTANCES.	EMPÊCHE LE DÉVELOPPEMENT d'une façon absolue.	RETARDE CONSIDÉRABLEMENT le développement et en diminue l'intensité.
Acide benzoïque.....	1 pour 2.500	1 pour 3.000
— borique.....	1 — 300	1 — 250
— butyrique.....	1 — 500	1 — 1.250
— chlorhydrique.....	1 — 1.111	1 — 1.666
— lactique.....	1 — 656	1 — 1.111
— phénique.....	1 — 1.000	1 — 1.250
— picrique.....	1 — 1.111	1 — 2.250
— salicylique.....	1 — 1.666	1 — 2.250
— succinique.....	1 — 1.666	1 — 2.000
— tartrique.....	1 — 1.666	1 — 2.500
Alcool.....	1 — 17	1 — 20
Borax.....	1 — 333	1 — 400
Bichlorure de mercure.....	1 — 25.000	1 — 33.333
Bichlorure de mercure, 1, et acide chlorhydrique, 5.....	1 — 33.333	1 — 27.000
Brome.....	1 — 1.250	1 — 1.700
Carbonate d'ammoniaque.....	1 — 500	1 — 700
Carbonate de soude.....	1 — 166	1 — 250
Chlorure de zinc.....	1 — 5.000	1 — 10.000
Essence de moutarde.....	1 — 10.000	1 — 12.500
Résorcine.....	1 — 333	1 — 416
Sulfate de cuivre.....	1 — 6.666	1 — 4.000
Thymol.....	1 — 6.666	1 — 10.000

Tableau II.

SUBSTANCES.	ARRÊTE LE DÉVELOPPEMENT après qu'il a débuté.
Acide benzoïque.....	1 pour 600
— borique.....	1 — 125
— butyrique.....	1 — 400
— chlorhydrique.....	1 — 400
— lactique.....	1 — 450
— phénique.....	1 — 400
— picrique.....	1 — 1.000
— salicylique.....	1 — 1.428
— succinique.....	1 — 1.000
— tartrique.....	1 — 1.000
Alcool.....	1 — 12.5
Borax.....	1 — 100
Bichlorure de mercure.....	1 — 20.000
Bichlorure de mercure, 1, et acide chlorhy- drique, 5.....	1 — 15.000
Brome.....	1 — 830
Carbonate d'ammoniaque.....	1 — 200
Carbonate de soude.....	1 — 125
Chlorure de zinc.....	1 — 3.575
Essence de moutarde.....	1 — 8.333
Résorcine.....	1 — 200
Sulfate de cuivre.....	1 — 4.000
Thymol.....	1 — 2.500

Je dois ajouter qu'il présente aussi une remarquable résistance à l'action du suc gastrique, qui n'exerce aucune action sur lui; même après être resté à son contact pendant plus de vingt-quatre heures à une température de 37°-38°, ce fait explique comment il se fait qu'on le retrouve en abondance dans l'enduit lingual et dans les matières fécales.

CHAPITRE VII

Nutrition.

Le bacille *mesentericus vulgatus* demande pour se développer une nourriture, un substratum nutritif assez complexe, jusqu'ici nous avons étudié son développement dans des milieux fort complexes; sans vouloir essayer de copier même de loin le magnifique travail de M. Raulin sur l'*aspergillus niger*, j'ai cherché du moins à me rendre compte quelles espèces d'aliments lui étaient nécessaires.

A cet effet, je l'aiensemencé dans les solutions suivantes :

1° Solutions de sucre candi à 2, 4, 8, 12 p. 100. — Aucun développement.

2° Phosphate tribasique de potasse 0^{gr},5, tartrate d'ammoniaque 0^{gr},5, sucre 4 grammes, eau 100 grammes. — Aucun développement.

3° Liqueur de Cohn. — Aucun développement

4° Liqueur de Cohn avec 2, 4, 8, 12 p. 100 de sucre candi. — Aucun développement.

5° Liqueur de Nægli. — Aucun développement.

6° Liqueur de Nægli avec 2, 4, 8, 12 p. 100 de sucre candi. — Aucun développement.

7° Solution de glycose, à 2, 4, 8, 12 p. 100. — Aucun développement.

8° Petit lait préparé à chaud (par conséquent ne contenant pas d'albumine). — Pas de développement.

9° Petit lait préparé à froid contenant par conséquent l'albumine de lait, mais cette albumine avait été précipitée par la stérilisation à 115°. — Aucun développement.

10° Liquide de Raulin neutralisé et pas neutralisé. — Pas de développement.

11° Liquide contenant : eau 1000^{gr}, soude trace, chaux 0^{gr},25, sulfate de magnésie 1^{gr},50, phosphate tribasique de potasse 8 grammes, silicate de potasse 0^{gr},25, chlorure de

sodium 0^{gr},13 (1) avec 2, 4, 8, 12 p. 100 de sucre. — Pas de développement.

12° Le liquide précédent sauf que le sucre est remplacé par de l'amidon. — Pas de développement.

13° Nous avons vu plus haut (page 31) que ce micro-organisme se développait admirablement bien à la surface des pommes de terre et qu'il transformait rapidement l'amidon en glycose, aussi l'ai-je ensemencé sur un empois d'amidon ayant à peu près la même consistance que les pommes de terre (15 p. 100), mais je n'ai pas obtenu la moindre trace de culture, je l'ai alors ensemencé sur des empois plus faibles sans plus de succès.

J'ai alors préparé un empois d'amidon, avec les mêmes quantités de sels et d'eau que celle qui existe dans les pommes de terre.

Le mélange était formé de :

Amidon.....	155
Dextrine.....	19
Potasse.....	6.25
Chaux.....	0.25
Magnésie.....	0.53
Sulfate de fer.....	0.1
Acide phosphorique.....	1.79
— sulfurique.....	0.45
— silicique.....	0.18
Chlorure de sodium.....	0.15
Eau.....	728

Il se rapproche sensiblement de la composition de la pomme de terre, qui d'après Moleschott est composée de :

Albuminoïdes.....	13.23
Cellulose.....	64.43
Amidon.....	154.35
Dextrine.....	16.95
Graisse.....	1.56
Matière extractive.....	8.99
Sels.....	10.25
Potasse.....	6.26
Chaux.....	8.26
Magnésie.....	0.53
Oxyde de fer.....	0.05
Acide phosphorique.....	1.79
— sulfurique.....	0.47
— silicique.....	0.18
Chlorure de sodium.....	0.15
Eau.....	727.46

(1) Le liquide présente à peu près la composition des sels de la pomme de terre.

J'ai divisé cet empois en trois, à la première masse je n'ai rien ajouté, à la seconde j'ai ajouté 10 parties de peptone et à la troisième 100 grammes de sérum représentant 9 grammes de matière sèche.

Ces trois mélanges furentensemencés et placés à l'étuve à 36°. Dès le lendemain, le développement des bactéries sous la forme d'une belle membrane blanche et plissée s'était effectué sur les deux masses contenant des matières albuminoïdes; sur celle qui n'en renfermait pas, on renouvela les jours suivants à plusieurs reprises l'ensemencement sans le moindre succès.

Une matière albuminoïde paraît donc nécessaire au développement du bacille *mesentericus vulgaris*.

14° Infusion de haricots (haricots secs, 5; eau 100. — Développement, poids (1) des bactéries 0^{gr},123.

15° Infusion de carottes (carottes humides, 30; eau, 100). — Développement, poids des bactéries 0^{gr},094.

16° Infusion de pommes de terre (pommes de terre humides, 30; eau, 100). — Développement, poids des bactéries 0^{gr},120.

17° Infusion de foin (foin sec, 10; eau, 100). — Développement, poids des bactéries 0^{gr},131.

18° Infusion de navets (navets humides, 30; eau, 100). — Développement, poids des bactéries 0^{gr},101.

(1) J'ai essayé divers procédés pour arriver à peser les bactéries, le premier que j'ai mis en usage est celui recommandé par Nencki (*Beiträge z. Biologie d. Spaltp.*, 1880), qui consiste à faire bouillir la solution nutritive avec 2.3 d'acide chlorhydrique, les bactéries d'après lui se précipitant en flocons dans la liqueur, il est alors facile de les recueillir sur un filtre. Ce procédé ne m'a pas réussi, car beaucoup de bactéries passaient à travers le filtre. Je me suis alors arrêté au suivant: j'ai préparé une fois pour toutes une solution d'albumine que j'avais filtrée pour la rendre bien homogène et à laquelle j'ai ajouté un peu d'iode pour éviter la putréfaction. J'ajoutais 10 centimètres cubes de cette solution, pour chaque 100 centimètres cubes de liquide dont il s'agissait de recueillir les bactéries et 5 centimètres cubes d'une solution saturée d'acide picrique, puis je chauffais au bain-marie pendant 2 heures. L'albumine en se coagulant englobait les bactéries, elle était alors jetée sur un filtre taré, lavée à l'eau distillée jusqu'à ce que celle-ci passe incolore (la grande puissance colorante de l'acide picrique m'était utile, car lorsque l'eau passait incolore j'étais sûr que j'avais entraîné toutes les matières solubles), puis séchée à 100° et pesée. Je défalquais du poids que j'obtenais celui de l'albumine que j'avais déterminé une fois pour toutes, en la faisant se coaguler par la chaleur et l'acide picrique, dans l'eau distillée.

19° Solution à 3 p. 100 d'extrait de viande de Liebig. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},132.

20° Solution à 25 et 50 de sérum de sang de bœuf. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},072, 0^{gr},093, 0^{gr},11 (1).

Comme on le voit, les matières albuminoïdes en solution paraissent être nécessaires pour que ce micro-organisme se développe; pour m'en assurer, j'ai repris quelques-uns des milieux dans lesquels il ne s'était pas développé précédemment et je leur ai ajouté des matières albuminoïdes.

21° Solution de sucre candi à 2, 4, 8, 12 p. 100 avec 1 gramme de peptone. Développement, poids des bactéries 0^{gr},126, 0^{gr},132, 0^{gr},137.

22° Phosphate tribasique de potasse 0^{gr},05, tartrate d'ammoniaque 0^{gr},5, peptone 1 gramme, eau 100. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},132.

23° Liqueur de Cohn et 1 gramme de peptone p. 100. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},094.

24° Petit lait préparé à chaud (sans albumine) et 1 gramme de peptone p. 100. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},103.

25° Liquide de Raulin neutralisé et 1 gramme de peptone p. 100. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},102.

26° Liquide dont la formule est donnée au n° 11 et 1 gramme de peptone p. 100. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},112.

27° Solution de sucre candi à 2, 4, 8, 12 p. 100 avec 10 grammes de sérum sanguin (2). — Développement, poids des bactéries 0^{gr},112, 0^{gr},124, 0^{gr},142, 0^{gr},145.

28° Phosphate tribasique de potasse 0^{gr},5, tartrate d'ammoniaque 0^{gr},5, sérum sanguin 10 centimètres cubes. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},120.

29° Liqueur de Cohn et 10 grammes de sérum sanguin. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},092.

(1) Ce sérum contenait 9 gr. 27 de sérine pour 100, il avait été stérilisé par 3 chauffages successifs à 58°.

(2) Ce sérum contenait 9 gr. 27 de sérine pour 100, il était stérilisé à part et ajouté liquide aux solutions après que celles-ci avaient été stérilisées à l'autoclave.

30° Petit lait préparé à chaud (sans albumine) et 10 grammes de sérum sanguin. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},21.

31° Liquide de Raulin neutralisé et 10 grammes de sérum sanguin. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},104.

32° Liquide dont la formule est donnée au n° 11 et 10 grammes de sérum sanguin. — Développement, poids des bactéries 0^{gr},115.

Ces expériences montrent qu'une matière albuminoïde est nécessaire au développement du bacille *mesentericus vulgatus*, qu'elle soit fournie par de la peptone, de l'albumine musculaire, de la sérine, de l'albumine végétale. Il nous reste à savoir si elle peut être fournie par de la gélatine seule. A cet effet, j'ai lavé avec soin de la gélatine (marque de la comète) dans de l'eau distillée et je l'ai ajoutée aux liquides dans lesquels ce micro-organisme ne s'était pas développé lorsqu'ils ne renfermaient pas de matière albuminoïde, mais avait donné une culture lorsque j'en avais ajouté, et j'ai obtenu un développement très caractéristique quoiqu'il ne fût pas aussi abondant qu'avec l'albumine.

L'albumine seule n'est point suffisante, en effet ce micro-organisme ne se développe pas sur de l'albumine d'œuf de poule cuite ou crue, ni sur le sérum sanguin qu'on a soumis à une dialyse prolongée pour le priver de ses sels.

J'ai donc cherché l'influence de divers sels, pour cela j'ai préparé une assez grande quantité de bouillon juste neutralisé et dans une portion de ce bouillon j'ai cultivé le micro-organisme; comme moyenne de 4 essais j'ai obtenu après 6 jours de culture le poids de 0^{gr},1417 de bactéries pour 100 grammes de bouillon, les pesées m'avaient donné 0,141, 0,143, 0,141, 0,142.

L'autre portion de ce bouillon fut soumise à la dialyse pendant 8 jours, la surface de la membrane du dialyseur était très grande et le liquide n'occupait qu'un centimètre de hauteur, l'eau distillée était changée toutes les douze heures, de sorte que je pouvais considérer ce bouillon comme à peu près exempt de sel.

33° Le bouillon dialysé me donna un poids de bactéries de 0^{gr},01.

34° Bouillon dialysé et 0^{gr},5 p. 100 de phosphate tribasique de potasse. Poids des bactéries 0^{gr},06.

35° Bouillon dialysé et 0^{gr},25 de sulfate de magnésie. Poids des bactéries 0^{gr},025.

36° Bouillon dialysé et 0^{gr},5 phosphate tribasique de potasse et 0^{gr},25 sulfate de magnésie. Poids des bactéries 0^{gr},04.

37° Bouillon dialysé et 0^{gr},05 phosphate tribasique de potasse, 0^{gr},25 sulfate de magnésie, 0^{gr},01 phosphate tribasique de chaux. Poids des bactéries 0^{gr},121.

38° Bouillon dialysé et 0^{gr},25 bitartrate de potasse. — Pas de développement.

39° Bouillon dialysé et 0^{gr},5 sulfate d'ammoniaque. — Pas de développement.

40° Bouillon dialysé et 0^{gr},5 phosphate d'ammoniaque. — Pas de développement.

41° Bouillon dialysé et 0^{gr},5 tartrate d'ammoniaque. — Pas de développement.

42° Bouillon dialysé et 0^{gr},25 bitartrate d'ammoniaque et 0^{gr},5 phosphate tribasique de potasse. — Pas de développement.

43° Bouillon dialysé et 0^{gr},05 sulfate d'ammoniaque et 0^{gr},5 phosphate tribasique de potasse. — Pas de développement.

44° Bouillon dialysé et 0^{gr},5 phosphate d'ammoniaque et 0^{gr},5 phosphate tribasique de potasse. Poids des bactéries 0^{gr},115.

45° Bouillon dialysé et 0^{gr},5 tartrate d'ammoniaque et 0^{gr},5 phosphate tribasique de potasse. — Pas de développement.

Bouillon dialysé avec 0^{gr},5 chlorure de sodium. Poids des bactéries 0^{gr},18.

46° Bouillon dialysé avec 0^{gr},5 phosphate de magnésie. Poids des bactéries 0^{gr},127.

47° Bouillon dialysé avec 0^{gr},5 phosphate de potasse. Poids des bactéries 0^{gr},2.

48° Bouillon dialysé avec 0^{gr},5 chlorure de potassium. Poids des bactéries 0^{gr},221.

49° Comme les expériences ci-contre que je viens de relater le montrent, les sels de potasse paraissent être par excellence favorables au bacille *mesentericus vulgaris* et en particulier le phosphate tribasique. Pour m'en assurer j'ai

ajouté des quantités croissantes de ce sel à du bouillon dialysé et j'ai obtenu les résultats suivants :

Bouillon dialysé avec :		Poids des bactéries.
0.2 phosphate tribasique de potasse pour 100.		0.04
0.4	—	0.053
0.8	—	0.062
1.6	—	0.065
2.4	—	0.053
3	—	0.053
4	—	0.04
6	—	0.037
8	—	0.021
10	—	0.021
12	—	0.019
14	—	0.018
16	—	0.017
18	—	0.017
20	—	0.0167

Je me suis alors demandé si ce micro-organisme en plein développement, et étant dans toute la force de sa vie, ne pourrait pas vivre dans des milieux dans lesquels il ne peut pas se développer, en un mot, si les substances qui ne peuvent lui servir à édifier peuvent être utilisées par lui lorsqu'elles sont seules comme matériaux d'entretien. Pour le rechercher, j'ai ensemencé un ballon-pipette Pasteur, à demi rempli de bouillon nutritif avec lui. Au bout de 48 heures de séjour à l'étuve, la surface du bouillon était recouverte par une zoogée fort épaisse et plissée. J'ai alors chassé le bouillon en prenant la précaution de conserver intacte la zoogée, puis à deux reprises j'ai fait passer en dessous d'elle un peu d'eau stérilisée, afin d'enlever le plus possible toute trace de bouillon, puis j'ai remplacé le bouillon par une solution à 5 p. 100 de sucre contenant 0,5 de phosphate tribasique de potasse.

Le lendemain je n'ai constaté aucun changement ; la zoogée est au fond du ballon. Le surlendemain également et ainsi de suite pendant quinze jours. J'fis alors l'analyse de la solution du sucre, elle contenait 4 gr. 4 de sucre interverti par litre. Il me paraît évident que la faible quantité de sucre interverti trouvée est due non à une végétation de la plante (plus loin nous verrons que lorsqu'elle végète

elle aurait interverti beaucoup plus de sucre), mais probablement à ce que la zooglée contenait une certaine quantité de diastase inversive, diastase que des expériences ultérieures nous feront connaître.

En même temps que cette expérience, j'en faisais une autre dans laquelle la solution de sucre était remplacée par une à 3 p. 100 d'amidon. Je n'ai, dans ce cas, aussi observé aucun développement du micro-organisme; l'analyse me montra que l'empois contenait 2 gr. 12 de glycose par litre.

La formation du sucre réducteur avec l'amidon est évidemment due aux mêmes causes que celle qui a amené l'inversion du sucre de canne.

CHAPITRE VIII

Respiration.

Afin d'arriver à doser la quantité d'acide carbonique que ce micro-organisme dégageait pendant son développement et son évolution et la quantité d'oxygène qu'il fixait, j'ai disposé l'appareil suivant : dans un ballon de 2 litres à 2 litres et demi de capacité environ, j'introduisais du bouillon neutralisé et peptonisé dans lequel il se développe avec une grande vigueur, comme nous l'avons vu ; ce bouillon, qui avait été au préalable stérilisé à l'autoclave, était de nouveau, après son introduction dans le ballon, stérilisé par 2 ébullitions successives de quelques minutes faites à un jour d'intervalle.

A travers le tampon de coton flambé, plongeait presque jusqu'à la surface du liquide un tube de verre, qui amenait l'air humide sortant à travers un tampon de coton ; cet air avait au préalable passé dans un appareil à boules *de Liebig* rempli d'une solution de potasse caustique, afin de le priver de toutes traces d'acide carbonique.

Je faisais barboter l'air se rendant dans le ballon dans lequel se faisait la culture, dans l'eau d'un premier ballon dans le double but de la débarrasser de toutes traces de solution alcaline, qu'il aurait pu entraîner et afin qu'il se chargeât de vapeur d'eau, de sorte que j'évitais ainsi que l'air sortant du ballon de culture ne se chargeât d'humidité aux dépens de l'eau du bouillon de culture, qui serait ainsi concentré.

Au ballon de culture était adapté un tube à boule destiné à retenir la vapeur d'eau qui pourrait se condenser à sa sortie du ballon de culture. Après lui, venaient deux appareils à boules *de Liebig*, remplis de solution de potasse caustique, destinée à absorber l'acide carbonique dégagé par la culture ; enfin, leur faisant suite, venait un tube

en U dont une des branches renfermait de la pierre ponce imbibée de potasse caustique, l'autre du chlorure de calcium, pour arrêter toute trace d'humidité et d'acide carbonique venant d'un flacon de Mariotte, qui par son aspiration faisait circuler l'air dans tout l'appareil; de plus, pour éviter autant que possible l'absorption des gaz par l'eau de ce flacon, je l'avais recouverte d'une couche d'huile.

Cet appareil, comme on le voit, n'est somme toute que l'appareil employé pour le dosage de l'acide carbonique dégagé par les animaux, modifié pour les conditions spéciales dans lesquelles je devais et voulais opérer.

Aussi ai-je été obligé de porter une attention spéciale sur les voies de l'arrivée de l'air. Un instant j'ai eu l'intention de stériliser l'air dès son entrée dans l'appareil en faisant précéder le premier tube de Liebig par un autre appareil de Liebig rempli d'acide sulfurique, ou en faisant d'abord passer l'air dans un long tube de verre rempli de coton flambé afin de le filtrer; mais j'ai dû renoncer à cette disposition, car j'aurais eu une trop grande longueur d'appareil à stériliser; j'ai donc stérilisé l'air à son entrée dans les ballons en le forçant à traverser trois tampons de ouate flambée, le premier placé sur le tube de l'arrivée de l'air du premier ballon, le second dans le col de ce dernier, enfin le troisième dans le col du ballon de culture; ces trois tampons avaient été flambés avec les ballons eux-mêmes; puis, lorsque les liquides de ces ballons avaient été stérilisés, avant de placer les bouchons de caoutchouc, qui avaient été stérilisés dans une solution chaude de bichlorure de mercure, je brûlais le haut de tous ces tampons, afin de détruire les germes qui auraient pu se trouver à leur surface. Quant aux tubes de verre et de caoutchouc qui réunissaient les deux ballons, je les sortais seulement au moment de leur mise en place d'un ballon plein d'eau où je les avais stérilisés à 120°. Ces précautions ont été suffisantes, car j'ai fait marcher un appareil ainsi monté pendant huit jours à blanc, et le bouillon ne s'est pas troublé. Les ballons à eau et à culture étaient les seules parties de l'appareil placées dans l'intérieur de l'étuve, toutes les autres étaient placées en dehors; je faisais passer une quantité d'air assez considérable dans le ballon de

culture, en moyenne 10 litres par 24 heures; j'effectuais le dosage de l'acide carbonique par la décomposition du carbonate de potasse formé dans les appareils de Liebig.

J'ai préféré ce procédé à ceux plus précis des méthodes alcalimétriques, car j'étais plus habitué à ce premier qu'aux derniers.

Voici comment j'opérais. Chacun des appareils de Liebig contenait au début 20 centimètres cubes d'une solution de potasse, soit en tout 40 centimètres cubes. Lorsque l'expérience était achevée, le contenu des appareils de Liebig était placé dans un vase gradué, et avec de l'eau servant à laver les appareils de Liebig, on étendait ce contenu jusqu'à 100 centimètres cubes. Ces 100 centimètres cubes étaient par fractions de 5 centimètres cubes décomposés dans un tube gradué et sous la cuve à mercure à l'aide de l'acide chlorhydrique, et les chiffres obtenus par chaque analyse partielle étaient ensuite additionnés ensemble.

Le volume réel du gaz à 0° et à la pression de 760 était obtenu à l'aide de la formule

$$V^0 = \frac{V' P t (1)}{760 (1 + \alpha t)}.$$

Comme il est fort difficile d'obtenir de la potasse caustique exempte de carbonate, j'ai employé une solution de potasse contenant une quantité de carbonate dont j'avais à l'avance déterminé avec soin la teneur en acide carbonique; il me suffisait alors, lorsque j'analysais le contenu des appareils de Liebig, de retrancher de la quantité d'acide carbonique obtenue celle qui se trouvait dans la potasse introduite dans les appareils avant leur mise en marche: c'était une correction de plus à ajouter à celles de la température, de la pression et de la tension de la vapeur d'eau, car quoique l'analyse fût faite sous le mercure, le tube à analyse contenait des solutions aqueuses qu'en pratique je considérais comme de l'eau pure, quoique cela ne fût pas rigoureusement exact.

(1) Dans cette formule, V signifie le volume véritable; V', le volume trouvé; P, la pression barométrique au moment de l'analyse; T, la température au même moment, la tension de la vapeur d'eau à t degré et α la dilatation de l'acide carbonique ou 0,00371.

Quant au dosage de l'oxygène, je le faisais en analysant chaque jour l'air contenu dans le flacon de Mariotte, de la quantité d'azote obtenue je calculais l'oxygène en considérant que 790 cubes d'azote équivalaient à 209 d'oxygène (1).

Dans les conditions que je viens de décrire j'ai fait trois expériences; dans la première j'avais introduit dans le ballon un litre de bouillon; elle dura quarante jours; au bout de ce temps, il n'y avait plus de membrane à la surface du bouillon. Les matières nutritives qu'il renfermait paraissaient complètement épuisées. Dans la seconde, qui dura trois semaines, j'avais introduit un demi-litre de bouillon; enfin dans la troisième, qui dura seulement quinze jours, je n'avais introduit que 200 grammes de bouillon.

La première expérience me donna les chiffres suivants :

Quantité de la plante introduite.....	{ 1 goutte d'une culture.
Poids des matériaux brûlables du bouillon (2).....	28 ^s ,94
Poids de la plante à la fin de l'expérience, séchée à 100°.....	15,435
Volume d'acide carbonique fixé par la potasse caustique.....	9 ^l ,744
Volume d'azote ayant passé par l'appareil de Mariotte.....	292 ^l ,300
Volume d'oxygène ayant passé par l'appareil, cal- culé d'après la quantité d'azote.....	77 ^l ,441
Volume d'oxygène trouvé dans le flacon de Mariotte.	66 ^l ,270

Donc :

Oxygène fixé par la plante.....	4 ^l ,427
---------------------------------	---------------------

et

Oxygène ayant servi à la combustion des matériaux du bouillon (3).....	9 ^l ,744
---	---------------------

(1) En réalité, au lieu de 790 volumes d'azote, je devrais calculer 790,7; mais il m'était impossible d'arriver à cette précision, j'effectuais en effet l'analyse dans un tube avec lequel je ne pouvais apprécier avec certitude que le 10^e de degré; de même, au lieu de 209 d'oxygène, j'aurais dû calculer 209,3.

(2) Le poids des matériaux brûlables du bouillon était obtenu en pesant le résidu sec d'un échantillon de bouillon, en le calcinant et en défalquant le poids des sels du poids de résidu sec.

(3) Nous considérons qu'un volume d'oxygène correspond, comme la chimie l'apprend, à un volume d'acide carbonique.

La seconde expérience donna les chiffres suivants :

Quantité de la plante introduite.....	{ 1 goutte d'une culture.
Poids des matériaux brûlables du bouillon.....	15 ^g ,21
Poids de la plante à la fin de l'expérience, séchée à 100°	0 ^g ,721
Volume d'acide carbonique fixé par la potasse caustique.....	51,221
Volume d'azote ayant passé par l'appareil, et trouvé dans le flacon de Mariotte.....	1761,370
Volume d'oxygène ayant passé par l'appareil, cal- culé d'après la quantité d'azote.....	461,674
Volume d'oxygène trouvé dans le flacon de Mariotte.	401,738

Donc :

Oxygène fixé par la plante.....	01,715
---------------------------------	--------

et

Oxygène ayant servi à la combustion des matériaux du bouillon.....	51,221
---	--------

La troisième expérience me donna les chiffres suivants :

Quantité de la plante introduite.....	{ 1 goutte d'une culture.
Poids des matériaux brûlables du bouillon.....	5 ^g ,97
Poids de la plante à la fin de l'expérience.....	0 ^g ,286
Volume d'acide carbonique fixé par la potasse caustique.....	21,027
Volume d'azote ayant passé par l'appareil, et trouvé dans le flacon de Mariotte.....	1131,760
Volume d'oxygène ayant passé par l'appareil, cal- culé d'après la quantité d'azote.....	301,140
Volume d'oxygène trouvé dans le flacon de Mariotte.	271,113

Donc :

Oxygène fixé par la plante.....	01,297
---------------------------------	--------

et

Oxygène ayant servi à la combustion des matériaux du bouillon.....	21,027
---	--------

Si nous rapportons à 1000 grammes de bouillon les chiffres obtenus dans les trois expériences afin de pouvoir faire plus facilement la comparaison, nous trouvons :

	1 ^{re} exp.	2 ^e exp.	3 ^e exp.
Poids des matériaux solides brûlables du bouillon	28 ^g ,94	30 ^g ,42	29 ^g ,85
Poids de la plante.....	1 ^g ,435	1 ^g ,442	1 ^g ,430
Oxygène fixé par la plante.....	11,427	11,430	11,470
Oxygène transformé en acide carbonique,	91,744	101,442	101,135

Afin de pouvoir comparer plus facilement encore ces chiffres, nous prendrons une unité du poids de la plante comme base. Nous trouvons, en représentant par 1 le poids de la plante,

Poids des matériaux solides brûlables du bouillon	20 ^g ,46	21 ^g ,09	20 ^g ,95
Volume d'oxygène fixé par la plante....	0 ^l ,995	0 ^l ,990	1 ^l ,035
Volume d'oxygène transformé par la plante.....	6 ^l ,859	7 ^l ,24	7 ^l ,115

Ce qui donne comme moyenne :

Poids des matériaux solides brûlables du bouillon.....	21 ^g ,40
Volume d'oxygène fixé par la plante.....	1 ^l ,007
Volume d'oxygène transformé par la plante.....	7 ^l ,070

La quantité d'oxygène fixé par la plante peut paraître considérable, elle ne l'est pas réellement, le litre d'oxygène pesant à 0° et sous la pression de 760 millimètres 1^{gr}, 437, on voit qu'elle est toujours fixée un peu moins de son poids et qu'elle n'a transformé en acide carbonique qu'un peu moins de 7 fois son poids d'oxygène. Or le *microderma aceti* est capable, d'après les calculs qu'a faits M. Duclaux d'une expérience de M. Pasteur, de fixer sur l'alcool 165 fois son poids d'oxygène en 24 heures.

La levure, toujours d'après M. Duclaux, qui s'appuie ici sur des expériences de M. Hansen, peut en une heure de temps, dans un milieu sucré et respirant librement, consommer $\frac{1}{8}$ de son poids d'oxygène, soit en 24 heures, 3 fois son propre poids.

Il serait intéressant de calculer quelle est la quantité d'oxygène que cette plante fixe en 1 heure pour un poids donné; nous pourrions ainsi comparer son activité respiratoire avec celle de la levure, de l'hémoglobine, mais si nous nous servions des chiffres que nous avons obtenus et du nombre d'heures qu'a duré l'expérience, nous tomberions dans de graves erreurs, car même l'action de la plante avait cessé depuis longtemps lorsque nous avons arrêté nos expériences. En effet, depuis quelques jours déjà les micro-organismes ne formaient plus de voile à la surface, et le liquide de culture avait cessé de brunir, ce qui indiquait que les oxydations qui s'y produisaient

sous l'influence du micro-organisme n'avaient plus lieu. Nous tenterons de le faire plus loin en employant l'élégant procédé de MM. Schutenberger et Risler. Je ne ferai pas ces calculs d'autant plus que je ne tardai pas à m'apercevoir que ces expériences n'avaient pas la grande précision qui était nécessaire; ce procédé, excellent pour les analyses des gaz d'un animal ou d'une plante respirant énergiquement, ne l'était pas pour ce micro-organisme; en effet, les erreurs inévitables, négligeables quand la quantité d'oxygène employée à la combustion est considérable, ne sont plus ici des quantités négligeables. Pour ne citer que deux exemples de ces erreurs, je dirai que je ne pouvais mesurer que les dixièmes de cent. cube d'oxygène; or, comme je faisais mon analyse sur 100 centimètres cubes de l'air du flacon de Mariotte, j'avais une erreur possible pour 10 litres de gaz et 10 centimètres cubes. La seconde cause d'erreur, et qui me paraît plus importante que la première, venait de ce que je considérais que j'introduisais dans mon tube à analyser de l'air sec, regardant l'air du flacon de Mariotte comme en étant — c'était une erreur. En effet, l'air qui remplissait ce ballon était bien recouvert d'une couche d'huile, mais il avait barboté dans de l'eau pour y pénétrer; de plus, malgré la couche d'huile, quelques gouttes aqueuses restant adhérentes aux parois du flacon, l'air de celui-ci était plus ou moins saturé d'humidité; comme le degré de saturation, qui n'était évidemment pas celui de la saturation complète, m'était inconnu, je ne pouvais le calculer.

Il y avait deux manières de corriger ces erreurs : la première, de compliquer encore l'appareil; la seconde, d'en employer un autre. Je me suis arrêté à ce dernier parti, le considérant comme le meilleur et surtout le plus pratique. Il m'a paru que l'appareil dont je devais me servir devait réaliser les conditions suivantes : être parfaitement clos, de manière à garder complètement les gaz qu'il renfermait; être exempt de germes étrangers et ne pas permettre leur introduction accidentelle; enfin permettre l'enlèvement des gaz contenus à son intérieur, ainsi que l'introduction d'autres dont je connaissais parfaitement la composition.

Dans ce but j'ai construit l'appareil suivant : le récipient dans lequel je faisais des cultures était formé par un ballon de verre de 2 litres $1/2$ de capacité environ; je le stérilisais par flambage, après l'avoir bouché avec un tampon de ouate.

Le milieu nutritif introduit etensemencé, je remplaçais le tampon de ouate, et au-dessus de lui je mettais un bouchon de caoutchouc percé d'un trou.

Dans ce trou s'engageait un tube de verre qui était d'abord deux fois recourbé à angle droit sur lui-même (fig. 12); ce tube avait une de ses branches beaucoup plus longue que l'autre et la longue portait presque à sa courbure un robinet à trois voies; sur son extrémité inférieure s'ajustait un tube presque aussi long que lui, de façon à ce que, lorsqu'on avait introduit du mercure, ces tubes formaient un manomètre qui permettait de connaître toute diminution ou augmentation de pression qui se produirait dans l'appareil.

La fermeture du ballon, assurée presque parfaitement par le bouchon de caoutchouc suifé avec soin, était rendue parfaitement hermétique, grâce à un cylindre en verre enveloppant le haut du col du ballon et le dépassant de façon à former un godet que je remplissais de glycérine. Le robinet à trois voies fixé sur la longue branche servait à recueillir, à l'aide de la pompe à mercure, les gaz contenus dans le ballon, et à en introduire de nouveaux si cela était nécessaire.

Ce robinet, pour plus de sûreté, était lui aussi plongé dans une boîte de glycérine; enfin l'ajutage formant l'U et qui n'est pas représenté sur la figure était lui aussi plongé dans la glycérine.

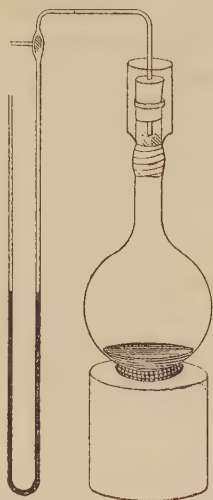


Fig. 12. — Ballon pour connaître les changements qui se produisaient dans l'air sous l'influence de la culture du bacille *mesentericus vulgaris*. Pour plus de simplicité, on n'a pas figuré les boîtes remplies de glycérine qui entouraient le robinet à trois voies et celle qui se trouvait sur l'ajutage du tube en U formant le manomètre, cet ajutage lui-même est supprimé.

L'appareil ainsi disposé ne pouvait laisser ni les gaz contenus à son intérieur diffuser ni ceux de l'intérieur se mêler avec eux.

La capacité de tout l'appareil avait été au préalable déterminée avec soin en tenant compte de la profondeur à laquelle pénétrait le bouchon dans le col du ballon et du volume réel du tampon de ouate, de sorte qu'il était facile de calculer par la formule :

$$V = \frac{V H - f}{V (1 + at)}$$

le volume des gaz qu'il renfermait.

Le volume réel du tampon était obtenu en prenant la densité d'un même poids de ouate flambé en même temps que le tampon.

Afin d'éviter à nos lecteurs tout travail inutile, nous donnerons tous les volumes de gaz, dont nous aurons à parler dans les expériences suivantes, secs à la température de 0° et sous la pression de 760.

Dans une première expérience nous avons introduit dans le ballon 100 centimètres cubes de bouillon de veau neutralisé et peptonisé, le volume de l'air enfermé dans l'appareil était de 2373. 043 centimètres cubes. Donc celui de l'oxygène était de 496. 75. Deux jours après, le 18 mars, nous constatons qu'il y a eu une absorption des gaz contenus dans le ballon, car la colonne de mercure est montée d'une certaine hauteur dans la branche droite de l'appareil (dans cette expérience nous avons négligé d'écrire dans nos notes la hauteur de cette colonne), et le calcul nous donne les chiffres suivants :

Volume des gaz dans l'appareil..... 2344.23

L'analyse les suivants :

Oxygène	49.80
Acide carbonique.....	444.73
Azote par différence	4876.68
Total.....	<u>2311.21</u>

Il y a donc eu 62. 22 centimètres cubes de gaz absorbés, soit par la plante qui s'est développée, soit par le bouillon.

L'examen du chiffre de l'azote 1876. 68, avant l'expérience et après, nous montre que le gaz absorbé est l'oxygène.

Ces 62. 22 centimètres cubes d'oxygène ont été probablement fixés par la plante soit sur elle, soit pour oxyder les matériaux du bouillon, peut-être pour ces deux choses, tandis que les 414. 73 autres ont été employés à brûler les matières hydro-carbonées du bouillon.

Après avoir, à diverses reprises, fait le vide jusqu'à 720 millimètres avec la trompe à eau, et à chaque fois laissé rentrer de l'air exempt d'acide carbonique dans l'appareil, nous le fermons de nouveau, l'équilibre de température étant établi et nous le laissons tranquille jusqu'au 29 mars, c'est-à-dire pendant 11 jours.

Le volume d'air qui avait été enfermé dans l'appareil le 10 mars était de 2376. 55 centimètres cubes, donc celui de l'oxygène était de 497. 41.

Le 29 mars, il était de 2282. 62.

L'analyse donna :

Oxygène	18.73
Acide carbonique.....	384.75
Azote par différence.....	1879.14
Total.....	<u>2282.62</u>
Oxygène absorbé.....	93.93

On fait le vide à plusieurs reprises et on renouvelle l'air ; l'expérience est continuée jusqu'au 16 avril ; la vitalité de la culture paraît bien affaiblie, car dès le 30 mars la zoogléa de la surface est tombée dans le fond du ballon.

Le volume de l'air enfermé le 29 mars était de 2373. 30 centimètres cubes, par conséquent celui de l'oxygène était de 496. 73.

Le 16 avril, il est de 2367. 45.

L'analyse donne :

Oxygène	338.89
Acide carbonique.....	453.89
Azote par différence.....	1876.67
Total.....	<u>2367.45</u>
Oxygène absorbé.....	5.85

On fait de nouveau pénétrer l'air, et huit jours plus tard on fait l'analyse des gaz.

Le volume d'air renfermé dans l'appareil le 16 avril était de 2367.47 centimètres cubes. Le volume de l'oxygène était donc de 495.64.

Le 24 avril, le volume des gaz est également de 2367.47. L'analyse donne :

Oxygène	448.36
Acide carbonique.....	47.25
Azote par différence.....	1871.86
Total.....	2367.47

Quatre jours encore plus tard on fait de nouveau l'analyse des gaz du ballon, mais comme leur composition est celle de l'air, on considère l'expérience comme achevée.

Comme résultats finaux nous trouvons que dans 100 grammes de bouillon qui contenait 2 gr. 974 de matériaux solides brûlables, 0 gr. 140 de plante pesée à l'état sec se sont développés et que ce poids de plante a fixé :

$$62.22 + 93.93 + 5.85 \text{ ou } 162 \text{ cent. cub. d'oxygène,}$$

et transformé en acide carbonique : 1000. 62 cent. cubes d'oxygène, car nous admettons avec les chimistes que l'oxygène se transforme en acide carbonique sans changer sensiblement de volume.

Dans une deuxième expérience, nous avons également introduit dans le ballon 100 centimètres cubes de bouillon nutritif; mais dans cette expérience nous avons noté avec soin toutes les 24 heures les indications du manomètre, ce qui nous renseignait jour par jour sur la quantité d'oxygène absorbé.

L'expérience commença le 22 avril. Le volume d'air enfermé dans l'appareil est de 2231.41 centimètres cubes, il y en avait donc 467, 03 d'oxygène.

Le 23 avril, le manomètre indique une dépression de 2^{mm}

24	—	—	4
25	—	—	22
26	—	—	28
27	—	—	32
28	—	—	32

On enlève le gaz de l'appareil, dont le volume est alors de ; 2469.30.

L'analyse donne :

Acide carbonique.....	347.02
Oxygène	43.38
Azote par différence.....	1779.00
Total.....	2169.30

Le volume de l'oxygène absorbé est donc	
de.....	62.11

Après avoir fait le vide à plusieurs reprises, et rempli le ballon avec de l'air dépouillé d'acide carbonique, l'équilibre étant établi, on ferme l'appareil; le volume de l'air est alors de 2 255. 04 centimètres cubes; donc celui de l'oxygène est de 471. 98.

Le 29 avril, le manomètre indique une dépression de 13^{mm}

30 —	—	—	25
1 ^{er} mai	—	—	28
2 —	—	—	28
3 —	—	—	28

On enlève le gaz de l'appareil; le volume des gaz est alors de 2 159. 78 centimètres cubes.

L'analyse donne :

Acide carbonique.....	120.38
Oxygène	58.70
Azote.....	1783.06
Total.....	2159.78
Oxygène absorbé.....	95.26

Du 3 mai au 9 mai le manomètre n'indiqua aucune différence de pression; ce jour-là on fit l'analyse des gaz.

L'analyse donna :

Acide carbonique.....	278.47
Oxygène	220.82
Azote.....	1894.96
Total.....	2394.35

Il y a eu absorption de 2 cc. 18 d'oxygène, car le volume de ce gaz au début de l'expérience était de 501. 47.

On enlève les gaz restant dans l'appareil et on les remplace à plusieurs reprises par de l'air dépouillé d'acide carbonique; on attend pour fermer le robinet que l'équilibre soit rétabli; le volume de l'air dans l'appareil est alors

de 2396 cc. 43; donc celui de l'oxygène est de 501. cc. 47.

Du 9 mai au 22 le manomètre n'indique aucune différence de pression; le 22, le volume des gaz enfermés dans l'appareil n'avait pas varié; on en fait l'analyse et on trouve :

Acide carbonique.....	40.33
Oxygène.....	461.14
Azote.....	1894.96
Total.....	2396.43

L'appareil fut de nouveau rempli d'air exempt d'acide carbonique, et cet air fut analysé six jours plus tard, le 28 mai; l'analyse donnant la composition normale de l'air, l'expérience fut considérée comme terminée.

Comme résultats finaux nous trouvons donc que dans 100 grammes de bouillon contenant 2 gr. 977 de matériaux solides brûlables se sont développés 0 gr. 141 de plante pesée à l'état sec et que ce poids de plante a fixé

$$62.11 + 95.26 + 2.18 \text{ ou } 159.55 \text{ c. c. d'oxygène}$$

et elle a transformé en acide carbonique :

$$347.02 + 318.02 + 278.47 + 40.33 \text{ ou } 983.84 \text{ c. c. d'oxygène.}$$

Nous fîmes une troisième expérience dans les mêmes conditions que la seconde; seulement nous n'introduisîmes dans le flacon que 50 centimètres cubes de bouillon.

L'expérience fut commencée le 4 mai.

Le volume de l'air enfermé dans l'appareil était de 1928 c. c. 44; donc celui de l'oxygène était de 403.62.

Le 5 mai, le manomètre était déprimé de 10^{mm}

6	—	—	15
7	—	—	25
8	—	—	30
9	—	—	30
10	—	—	35
11	—	—	35

On enlève les gaz, l'analyse donne, le volume des gaz étant 1840.90 :

Acide carbonique.....	260.64
Oxygène.....	55.44
Azote.....	1524.82
Total.....	1840.90
Oxygène fixé.....	87.54

A plusieurs reprises on renouvelle l'air du ballon à l'aide de la trompe. L'équilibre de température étant rétabli, on ferme le robinet de l'appareil. Le volume de l'air enfermé est, d'après le calcul, 1917.44 centimètres cubes, celui de l'oxygène est donc de 401.32.

Le 12 mai, le manomètre indique une dépression de 2^{mm}

13	—	—	4
14	—	—	4
15	—	—	4
16	—	—	4
17	—	—	4
18	—	—	4
19	—	—	4
20	—	—	4

Le calcul indique que le volume des gaz enfermés dans l'appareil est de 1904.60.

L'analyse donne :

Acide carbonique.....	204.30
Oxygène.....	184.48
Azote.....	1516.12
Total.....	1904.60
Oxygène absorbé.....	12.84

On renouvelle, à l'aide de la trompe, plusieurs fois l'air dans l'appareil, et lorsque l'équilibre de température est rétabli, on ferme le robinet de l'appareil qui renfermait à ce moment 1918.22 centimètres cubes de gaz, donc 404.6 d'oxygène.

Le manomètre n'indique aucun changement de pression. Du 20 mai au 30 mai, on fit l'analyse du gaz; la pression étant la même le 20 et le 30 mai, le volume des gaz n'a pas subi de variations.

L'analyse donne :

Acide carbonique.....	42.26
Oxygène.....	359.22
Azote.....	1516.74
Total.....	1918.22

L'air est renouvelé dans l'appareil et l'expérience continuée jusqu'au 8 mai; le manomètre reste stationnaire et l'analyse des gaz dans l'appareil n'indiquant aucun change-

ment dans leur composition, on considère l'expérience comme achevée.

Comme résultats finaux, nous trouvons que dans 50 grammes de bouillon nutritif contenant 1 gr. 597 de matériaux solides brûlables, il s'est développé 0.0715 de plante pesée à l'état sec, et que ce poids de plante a fixé :

$$87.54 + 12.84 \text{ ou } 100.38 \text{ cent. cub. d'oxygène,}$$

et transformé en acide carbonique :

$$260.64 + 204.30 + 42.26 \text{ ou } 507.2 \text{ cent. cub. d'oxygène.}$$

Si maintenant, afin de pouvoir faire plus facilement une comparaison, nous ramenons le résultat des trois expériences à 1000 grammes de bouillon, nous verrons que nous avons obtenu des chiffres presque identiques :

	1 ^{re} exp.	2 ^e exp.	3 ^e exp.
Poids des matériaux solides et brûlables du bouillon.....	2.974	2.977	3.194
Poids de la plante.....	1.40	1.41	1.43
Oxygène fixé par la plante....	1 620.00	1 595.50	2 007.60
Oxygène transformé en acide carbonique.....	10 006.2	9 838.40	10 144.00

Si, toujours afin de pouvoir faire plus facilement les comparaisons, nous prenons une unité de poids de la plante comme base, nous trouvons les chiffres suivants, le poids de la plante étant 1 :

	1 ^{re} exp.	2 ^e exp.	3 ^e exp.
Poids des matériaux solides et brûlables du bouillon.....	2.124	2.126	2.233
Oxygène fixé par la plante....	1 164.29	1 131.56	1 403.91
Oxygène transformé en acide carbonique.....	7 147.28	6 977.66	7 093.70

Le bacille *mesentericus vulgaris* fixe donc une quantité assez grande d'oxygène, et il paraît en employer une autre grande quantité à la combustion des matériaux se trouvant dans le bouillon ; mais il est assez difficile de savoir, dans les expériences que nous avons faites, si la grande quantité d'oxygène transformé en acide carbonique est le produit de la combustion des matériaux brûlables contenus dans le bouillon, ou provient d'une autre source, quoiqu'on ne sache pas trop de laquelle.

Cette question est plus facile à poser qu'à résoudre; cependant il m'a paru qu'il serait possible de le faire en ajoutant au milieu nutritif des éléments hydro-carbonés, car dans ce cas la quantité d'oxygène transformé en acide carbonique devra être plus grande que celle que nous avons trouvée.

J'ai fait dans ce sens les expériences suivantes :

Le 12 mai, dans un ballon de 2100 grammes de capacité réelle, j'ai introduit 100 grammes de bouillon contenant 3 gr. 174 de matières brûlables et 2 grammes de sucre candi; le ballon futensemencé.

Le volume réel de l'air qui y était enfermé était de 1972.71 centimètres cubes; donc celui de l'oxygène s'élevait à 412.89.

Le 13 mai, le manomètre indiquait une pression de 10^{mm}

14	—	—	15
15	—	—	21
16	—	—	25
17	—	—	32
18	—	—	38
19	—	—	41
20	—	—	43
21	—	—	48
22	—	—	48

Il y a donc eu dégagement probable d'acide carbonique, ce qui n'a rien d'étonnant, car ce micro-organisme fait, aux dépens du sucre, un peu d'alcool. L'analyse chimique des gaz de l'appareil confirme ce fait; en effet nous trouvons :

Oxygène	27.14
Acide carbonique.....	517.04
Azote.....	1559.82

Si nous retranchons de l'acide carbonique formé l'oxygène qui était dans l'appareil et qui s'élevait à 412.89 centimètres cubes, nous voyons qu'il en reste encore 104.15 centimètres cubes, et cela en admettant même, ce qui n'est guère probable d'après nos précédentes expériences, qu'il n'y a pas eu d'oxygène fixé; or ces 104.15 centimètres cubes ne peuvent venir que du sucre.

Si cette expérience est intéressante pour démontrer d'une façon indirecte la transformation du sucre, elle n'est pas démonstrative pour ce que nous cherchions; aussi

avons-nous remplacé le sucre par un autre aliment albuminoïde, de la fibrine.

Le 22 mai nous avons introduit, dans un ballon de 2127 centimètres cubes de capacité réelle, 100 grammes de bouillon et 2 grammes de fibrine humide.

Le volume réel de l'air est 2000.04, par conséquent celui de l'oxygène de 418.60.

Le 23 mai, le manomètre indique une dépression de 4^{mm}

24	—	9
25	—	15
26	—	24
27	—	28
28	—	31
29	—	35
30	—	35

L'analyse des gaz donne :

Acide carbonique.....	282.22
Oxygène.....	25.30
Azote.....	1581.44
Total.....	1888.96
Oxygène absorbé.....	411.08

On renouvelle l'air à plusieurs reprises dans l'appareil, la pression barométrique étant 755 millimètres comme le 22 mai ; le volume d'air est le même qu'à cette date, donc :

Air.....	2000.04
Oxygène.....	418.60

Le 1^{er} juin, le manomètre indique une dépression de 3^{mm}

2	—	7
3	—	8
4	—	12
5	—	13
6	—	15
7	—	15
8	—	15
9	—	15

L'analyse des gaz donne :

Volume.....	1926.36
Acide carbonique.....	312.54
Oxygène.....	32.38
Azote.....	1581.44
Total.....	1926.36
Oxygène absorbé.....	73.68

On renouvelle l'air dans l'appareil; le volume d'air qui y est enfermé est de 2000.04 et celui de l'oxygène de 448.60 centimètres cubes.

Du 9 au 20 juin la manomètre indique une dépression de 5 millimètres.

L'analyse des gaz donne :

Volume.....	1961.82
Acide carbonique.....	374.52
Oxygène.....	5.45
Azote.....	1581.44
Total.....	1961.41
Oxygène absorbé.....	38.63

L'air est renouvelé dans l'appareil; le volume d'air qui y est enfermé est de 1974.52 centimètres cubes; donc celui de l'oxygène est de 443.27.

Le 30 juin, le manomètre n'accusant aucun changement, on fait l'analyse des gaz, qui donne :

Acide carbonique.....	359.47
Oxygène.....	53.80
Azote.....	1561.25
Total.....	1974.52

On renouvelle l'air de l'appareil et on laisse l'expérience en marche jusqu'au 12 juillet, la pression étant la même à cette date que le 30 juin, le volume de gaz qui est enfermé est de 1974.52 centimètres cubes.

L'analyse donne :

Acide carbonique.....	217.41
Oxygène.....	195.86
Azote.....	1561.25
Total.....	1974.52

On renouvelle l'air, et l'appareil est laissé en marche jusqu'au 29 juillet; ce jour-là on fait le vide jusqu'à un millimètre à l'aide de la pompe à mercure, afin d'extraire les gaz dissous dans le liquide. Le volume des gaz enfermés dans l'appareil est de 1962.42 centimètres cubes.

L'analyse donne :

Acide carbonique.....	211.57
Oxygène.....	180.66
Azote.....	1561.25
Total.....	1953.48
Oxygène absorbé.....	8.94

On renouvelle l'air et on laisse l'appareil en marche jusqu'au 9 septembre; à cette date, on fait complètement le vide dans l'appareil et on trouve seulement 2.5 d'acide carbonique. On considère alors l'expérience comme terminée; le contenu du flacon est un liquide brunâtre et dans le fond on trouve un assez abondant dépôt formé surtout par des bactéries, qui, après avoir été séchées à 100°, pèsent 0 gr. 145.

Comme résultats finaux, nous trouvons que dans cette expérience il a été fixé par 0 gr. 145 de plante :

111.08 + 73.68 + 38.63 + 8.94 ou 232.33 cent. cub. d'oxygène,

et il en a transformé en acide carbonique :

282.22 + 312.56 + 374.52 + 359.47 + 217.41 + 211.57 + 2.5,
ou 1860.25 cent. cub.

Quelques jours après la mise en marche de la précédente expérience, nous en montions une autre dans des conditions absolument identiques; nous n'en donnerons que les résultats finaux, car elle suivit exactement la même marche que la précédente.

Le poids de la plante séchée à 100° était de 0 gr. 147.

L'oxygène fixé avait un volume de 212.23 centimètres cubes.

L'oxygène transformé en acide carbonique de 1721.61.

Si nous résumons dans un tableau ce que ces expériences nous ont donné, en ramenant les chiffres à 1000 grammes du bouillon et à 20 grammes de fibrine, nous avons :

	1 ^{re} exp.	2 ^e exp.
Poids des matériaux solides et brûlables du bouillon.....	5.965	5.837
Poids de la plante.....	1.45	1.47
Oxygène fixé par la plante.....	232.30	212.30
Oxygène transformé en acide carbonique...	1721.10	1860.50

En ramenant ces chiffres à 1, au poids de la plante, nous avons :

	1 ^{re} exp.	2 ^e exp.
Poids des matériaux solides et brûlables du bouillon.....	4.113	3.970
Oxygène fixé par la plante.....	1602.20	1443.80
Oxygène transformé par la plante.....	11730.80	12849.70

De l'ensemble de ces expériences, on peut tirer les conclusions suivantes :

Le bacille *mesentericus vulgaris* fixe une certaine quantité d'oxygène. La fixe-t-il sur lui-même? ou la fixe-t-il sur les matériaux au sein desquels il est cultivé?

La réponse absolue à cette question est du ressort de la chimie, mais il nous semble qu'il est probable qu'il en fixe une partie sur lui-même et l'autre sur les matériaux dans lesquels il est cultivé.

Il utilise une autre partie plus importante de cet oxygène pour transformer, pour brûler les substances hydrocarbonées au contact desquelles il se trouve, car nous avons vu que la quantité d'oxygène transformée en acide carbonique augmentait à mesure que la quantité de ces matières augmentait.

Ces expériences nous montrent que la bacille *mesentericus vulgaris* est très avide d'oxygène; que, comparé au *micoderma aceti* par exemple, il n'en fixait pas beaucoup, mais il en employait des quantités assez considérables à brûler les matériaux carbonés des liquides dans lesquels il se développait.

Aussi m'a-t-il paru, qu'il serait intéressant de savoir comment il se comporterait dans un milieu plus riche en oxygène que l'air atmosphérique; de voir si il était capable de tout l'employer, enfin de voir si, comme P. Bert (1) l'a constaté pour les plantes vertes, la germination et la végétation étaient ralenties par un excès de tension de l'oxygène, et si l'arrêt que détermine l'acide carbonique est dû à une action de cet acide ou simplement au manque d'oxygène.

A cet effet, après avoir fait le vide dans l'appareil décrit précédemment, j'y ai introduit de l'air plus ou moins riche en oxygène, ce qui était facile à l'aide du robinet à trois voies dont il était muni. L'appareil n'avait reçu qu'une légère modification, à la suite d'un accident qui m'était arrivé. Le ballon avait été remplacé par un flacon en verre épais, car les grands ballons, surtout ceux à fond plat, ainsi que les chimistes le savent bien, résistent rare-

(1) P. Bert, *La pression barométrique*. Paris, 1878, chap. v. Influence des modifications de la pression barométrique sur les végétaux, p. 845 à 866.

ment à la pression atmosphérique, lorsqu'on fait le vide à leur intérieur, et dans ces expériences, j'étais obligé de pousser le vide aussi loin que je pouvais. Avec la trompe à l'eau, il m'était possible de le pousser jusqu'à 720 millimètres, puis avec la pompe à mercure jusqu'à 757. Comme le vide n'était fait qu'à 3 millimètres dans l'appareil, je le remplissais une première fois du mélange d'azote et d'oxygène que j'employais, puis je faisais le vide et le remplissais une seconde fois du même mélange.

Dans une première expérience, j'ai introduit dans l'appareil un mélange d'azote et d'oxygène contenant 40 p. 100 de ce dernier gaz; la tension de l'oxygène était donc presque le double de ce qu'elle est à l'état normal.

Le lendemain il existait à la surface du liquide du ballon une fort belle membrane formée par ce micro-organisme; le manomètre indiquait une dépression de 15 millimètres; cette dépression ne fit qu'augmenter les jours suivants et atteignit, le sixième jour, 25 millimètres.

Le volume de gaz qui était enfermé dans le ballon au début de l'expérience était de 1802.88 centimètres cubes; par conséquent, il y avait 721.152 centimètres cubes d'oxygène. Le calcul indique qu'à la fin de l'expérience il n'y avait dans l'appareil que 1726.34 centimètres cubes; il s'était donc fait une absorption de 72.54 centimètres cubes d'oxygène, et l'analyse indique que les gaz contenus dans l'appareil étaient formés de :

Acide carbonique.....	624.12
Oxygène.....	20.50
Azote.....	1081.72
Total.....	1726.34

La plante, ainsi que l'indiquent l'aspect des cultures et les résultats de l'analyse des gaz s'était énergiquement développée.

Je fis une seconde expérience et dans celle-ci j'introduisis dans l'appareil un air renfermant 80 p. 100 d'oxygène, c'est-à-dire que la tension de ce gaz atteignait quatre fois la tension normale.

Le développement se fit excessivement rapidement, et, craignant qu'il n'y eût pas assez de matériaux à brûler

dans le bouillon, j'en avais porté la quantité à 200 grammes au lieu de 100, que j'avais introduits dans le flacon dans l'expérience précédente, et j'avais en plus ajouté 20 grammes de sérum sanguin, car je désirais savoir si tout l'oxygène pourrait être utilisé par la plante.

Le développement s'effectue excessivement bien ; dès le lendemain il y avait une membrane très plissée à la surface du bouillon, la tension dans l'appareil avait baissé de 12 millimètres ; elle baissa jusqu'à 32 millimètres, puis resta à partir du dixième jour stationnaire ; l'expérience fut laissée en marche pendant vingt-cinq jours.

L'analyse et le calcul indiquèrent qu'il y avait eu absorption de 104.23 centimètres cubes d'oxygène, que 1417.27 avaient été transformés en acide carbonique, et qu'il n'en restait que 9 centimètres cubes, non transformés, c'est-à-dire environ 0, 5 p. 100.

Dans l'expérience suivante, j'ai employé un milieu nutritif de même composition et j'ai introduit dans l'appareil de l'oxygène pur.

Le développement de la plante se fit très bien dans cette atmosphère : à la vingt-quatrième heure, la surface du bouillon était couverte d'une membrane très épaisse et très plissée ; l'expérience fut laissée en marche pendant vingt-cinq jours. Le calcul montra qu'il y avait eu absorption de 106.35 centimètres cubes d'oxygène et que le gaz de l'appareil contenait 99.25 centimètres cubes d'acide carbonique pour 100 ; il ne restait donc que 0,75 p. 100 d'oxygène.

N'ayant point d'appareils convenables, je n'ai point pu pousser plus loin d'une façon régulière ces expériences, et voir si la plante se développait sous une tension de 5, 6, 7 fois, etc., supérieure à la tension de l'oxygène dans l'air.

En tout cas ces expériences nous montrent que le micro-organisme est très avide d'oxygène, et qu'une tension égale à 5 fois la tension dans l'air de ce gaz ne l'empêche pas de végéter.

P. Bert avait constaté que dès que l'oxygène atteignait 40 p. 100, ce gaz agissait d'une manière défavorable sur la germination, et que le retard dans l'oxygène pur était considérable, enfin qu'au-dessus de 7 atmosphères les

graines ne jetaient que quelques radicules, mais que la tigelle n'apparaissait pas.

Il étudia également l'influence d'un excès de tension sur les bactéries, surtout sur celles de la putréfaction, et vit que l'oxygène n'agissait sur elles d'une façon bien nette que lorsque la pression égalait environ 10 atmosphères. Il est difficile de comparer les résultats que j'ai obtenus avec ceux de ce savant physiologiste, car dans ces expériences P. Bert avait affaire à plusieurs espèces de bactéries, quelques-unes évidemment anaérobies, tandis que celle que j'étudie est essentiellement aérobie; de plus n'ayant pas d'appareil convenable, j'ai été forcé de ne pas dépasser une tension d'oxygène supérieure à 3 atmosphères, et cette tension paraît n'être nullement suffisante pour amener le moindre trouble dans le développement du bacille *mesentericus vulgaris*.

Il serait nécessaire de reprendre ces expériences avec de l'oxygène à plus haute tension; je regrette que mon installation ne me permette pas de le faire.

La manière dont ce micro-organisme se développe dans les milieux liquides, qu'il trouble pendant les premières heures suivant l'ensemencement, puis la façon dont les bâtonnets se réunissent ensuite à la surface, en laissant le milieu absolument clair, montrent qu'il est très avide d'oxygène.

S'il les trouble dans leur profondeur durant les premières heures, c'est probablement parce que les liquides sont aérés et que le micro-organisme né dans leur profondeur y vit en s'emparant de l'oxygène qui y est dissout, puis, lorsqu'il a épuisé cet oxygène, il vient à la surface chercher celui qui lui est nécessaire.

Pour savoir si ma supposition était vraie, j'ai fait les expériences suivantes :

J'ai pris deux vases assez hauts de forme, dans lesquels j'ai mis une hauteur de 20 centimètres de bouillon nutritif. Dans l'un de ces vases A j'ai fait passer pendant plusieurs heures un courant d'air dépouillé de tout germe par son passage à travers une colonne de coton flambé longue de 6 centimètres, afin de saturer le bouillon d'oxygène. Le bouillon du vase B fut au contraire soumis au

vide à chaud, afin de le dépouiller de tous les gaz qu'il pouvait tenir en dissolution. Les deux flacons furent ensemencés en même temps et placés au voisinage l'un de l'autre dans l'étuve. Tous les deux avaient été ensemencés avec 1 centimètre cube de bouillon mis en culture depuis douze heures. A la dixième heure, le bouillon des deux flacons était sensiblement également trouble; à la dix-huitième heure, à la surface du bouillon du vase B un voile commençait à apparaître; à la vingt et unième heure, le voile était épais et commençait à se rider, tandis qu'il existait à peine un voile léger à la surface du bouillon du vase A. A la vingt-quatrième heure, le voile était très épais et fortement ridé à la surface du bouillon du vase B, tandis que le liquide était devenu complètement clair, le bouillon du vase A était toujours trouble et le voile à la surface était mince et non ridé.

Cette expérience me semble bien démontrer 1° l'avidité de ce micro-organisme pour l'oxygène, 2° que s'il forme un voile à la surface des liquides de culture et si les bouillons dans lesquels on le cultive ne sont plus troubles, passé la vingtième ou vingt-deuxième heure, c'est qu'il a épuisé la provision d'oxygène qui y était en dissolution et qu'il vient chercher celui de l'air ambiant.

Cette expérience ne me paraissant pas assez démonstrative, j'ai fait la suivante :

Pensant que si je parvenais à maintenir toujours une certaine quantité d'oxygène dans le bouillon, je n'assisterais pas à la formation d'une membrane à la surface, j'ai disposé un ballon de façon à ce qu'un courant d'air continu traversât le bouillon qui y était contenu. L'air était amené dans cet appareil par un tube plongeant dans le bouillon par une pointe très fine; ce tube s'ouvrait dans l'étuve par une assez large extrémité fermée par un tampon de ouate flambé; l'appel de l'air était fait à l'aide d'un flacon de Mariotte faisant passer environ 8 à 10 litres d'air par 24 heures dans le ballon, c'est-à-dire entre 1,600 et 2,000 centimètres cubes d'oxygène.

J'ai, après avoir ensemencé le bouillon, laissé l'appareil en marche pendant six jours; tout ce temps, le bouillon est resté trouble, il ne s'est point formé de membrane à la

surface; une goutte examinée au microscope montrait que les bacilles y formaient de longues chaînes.

Toutes ces expériences montrent bien que le bacille *mesentericus vulgaris* est un microbe aérobie mais jusqu'à quel point l'est-il? c'est ce qu'elles ne nous ont point montré. On sait que les vrais microbes aérobies, sont très rares; presque tous peuvent se développer plus ou moins bien sans oxygène libre.

Pour le savoir, j'ai fait les expériences suivantes :

Dans un ballon à densité, j'ai introduit du bouillon, je l'aiensemencé, puis j'ai fait le vide en chauffant légèrement le bouillon de façon à ce que tout l'air qui y était dissous fût chassé; je l'ai remplacé par de l'hydrogène bien dépouillé de toute trace d'oxygène par un barbotage dans un flacon laveur plein d'une solution d'acide pyro-gallique. Le col fut fermé au chalumeau et le flacon mis à l'étuve, où il resta huit jours sans qu'on y observât le moindre changement. Une goutte examinée au microscope ne montra aucun micro-organisme.

Je refis la même expérience, seulement j'avais eu soin d'enfoncer une bourre de ouate dans le col, en dessous du point fermé à la lampe; le ballon, après huit jours passés à l'étuve, ne montrait aucune trace de développement de micro-organismes; je brisai alors la pointe de la soudure de manière à permettre l'accès de l'air, et le lendemain une belle zooglé s'étendait à la surface du bouillon.

Ces expériences montrent que l'oxygène est absolument nécessaire à la vie de ce micro-organisme, et que sans lui il ne se développe pas; mais elles ne montrent pas s'il peut vivre et se développer dans une atmosphère moins riche en oxygène que l'air ambiant; pour le savoir, j'ai fait les expériences suivantes :

J'ai opéré comme dans les expériences faites avec l'hydrogène; seulement, au lieu de ce gaz, j'ai employé des mélanges d'azote et d'oxygène.

1° J'ai introduit un mélange de 90 centimètres cubes d'azote et de 10 d'oxygène : le lendemain il y avait une mince membrane à la surface du bouillon.

2° J'ai abaissé la richesse en oxygène du mélange

gazeux à 5 pour 100 : il s'est fait un développement fort net, quoique faible.

3° J'ai encore abaissé la richesse en oxygène du mélange gazeux, de façon à ce qu'il fût seulement de 2 pour 100 ; le développement n'était pas visible à l'œil nu ; mais, examiné au microscope, on trouvait dans le liquide quelques bacilles peu abondants il est vrai, mais qui s'étaient manifestement produits dans le bouillon, car il avait étéensemencé avec des spores.

J'ai dit plus haut qu'il serait intéressant de connaître la quantité d'oxygène qu'un poids connu de ce micro-organisme peut fixer et transformer en acide carbonique dans un temps donné et les raisons qui me faisaient rejeter, pour le calculer, les chiffres obtenus dans les expériences précédentes.

J'ai donc cherché un procédé pour le faire, d'abord j'ai agité un poids connu de ce micro-organisme dans de l'eau oxygénée, puis après plusieurs heures de séjour, j'ai calculé l'oxygène restant par le procédé de MM. Schutzenberg et Risler (hydrosulfite de soude et carmin d'indigo) ; mais les résultats que j'ai obtenus dans les expériences que je fis ainsi, me firent penser que je plaçais mon micro-organisme dans des conditions défectueuses, peu favorables aux manifestations de sa vitalité ; aussi l'ai-je rejeté et j'ai adopté le suivant.

Je commençais par saturer d'oxygène une certaine quantité de bouillon stérilisé en le faisant traverser pendant plusieurs heures par un lent courant d'air stérilisé.

Puis je prélevais quelques centimètres cubes de ce bouillon, dont la teneur en oxygène était dosée à l'aide du procédé de MM. Schutzenberg et Risler. Le reste du bouillon étaitensemencé après avoir été introduit dans un ballon dont la capacité réelle avait été déterminée avec soin ; celui-ci était immédiatement fermé par dessus son tampon de ouate avec un bouchon de caoutchouc suifé avec soin et traversé par deux tubes de verre fermés à leur extrémité supérieure à la lampe.

Dans ces conditions, mon microbe vivait dans un milieu nutritif riche en oxygène, et avait en outre dans le ballon de l'oxygène à consommer.

En ne faisant pas durer l'expérience trop longtemps, mais un temps suffisant, il m'était donc possible : 1° d'avoir le poids final de la plante développé dans un temps donné; 2° de savoir la quantité d'oxygène qui avait été employée (en calculant celle qui restait dans le bouillon et dans l'atmosphère du ballon); 3° de savoir par l'analyse de ce gaz, s'il lui a manqué.

Pour recueillir les gaz de l'atmosphère du ballon, je ne voulais point employer la pompe à mercure, car en agissant ainsi, j'aurais pu enlever une partie des gaz dissous dans le liquide de culture; c'est pour cela que j'avais fixé deux tubes dans le bouchon de caoutchouc; l'un de ces tubes plongeait jusque dans le fond du ballon; l'autre, qui ne dépassait presque pas le bouchon, avait en petit la forme des tubes à recueillir les gaz sous le mercure; il m'était donc facile, en adaptant sur le premier un tube de caoutchouc en communication avec un réservoir d'eau récemment bouillie, de placer, après avoir brisé la pointe de ces deux tubes, l'un dans le tube de caoutchouc, l'autre sous le mercure, une certaine quantité d'eau, qui chassait par déplacement dans l'éprouvette à gaz une partie de l'atmosphère du ballon.

Quant à l'analyse du liquide de culture, j'en prélevais 5 centimètres cubes, qui étaient analysés de nouveau par le procédé de MM. Schutzenberg et Risler, en tenant compte naturellement de l'eau introduite (invariablement 10 grammes pour 200 grammes). Quant au poids de la plante, je l'avais eu en ajoutant un poids connu d'albumine et un peu d'acide picrique au liquide de culture, qui était ensuite chauffé pendant une heure au bain-marie (voir page 44).

J'ai fait dans ces conditions quatre expériences; dans toutes les quatre j'ai introduit 200 grammes de bouillon dans un ballon dont la capacité réelle (en tenant compte de l'espace occupé par le tampon de ouate, le bouchon de caoutchouc et les tubes de verre) était de 1523 centimètres cubes, ce qui faisait que j'avais un volume d'air de 1323 centimètres cubes après l'introduction du bouillon, donc 276.90 centimètres cubes d'oxygène.

Chacune de ces expériences dura dix-huit heures et elles furent faites à la température de 37°.

Voici leurs résultats; par le calcul le volume des gaz est ramené à la température de 0° et à la pression de 760 millimètres :

	1 ^{re} exp.	2 ^e exp.	3 ^e exp.	4 ^e exp.
Volume de l'oxygène avant l'expérience dans le bouillon....	36.0	35.5	35.5	36.2
<i>Idem</i> , dans les gaz du ballon..	276.90	276.90	276.90	276.90
Oxygène total.....	312.90	312.40	312.40	313.10
Volume de l'oxygène dans le bouillon à la fin de l'expérience.....	0	2	0	0
<i>Idem</i> , dans les gaz du ballon...	13	9	12.52	11.43
Oxygène total.....	13	11	12.52	11.44
Donc oxygène, soit fixé par la plante, soit transformé en acide carbonique.....	299.90	301.40	299.88	301.66
Poids de la plante.....	0.2624	0.2610	0.2609	0.2631

Si maintenant nous rapportons tout à 1 gramme de la plante, nous avons :

	1 ^{re} exp.	2 ^e exp.	3 ^e exp.	4 ^e exp.
Oxygène, soit fixé par la plante, soit transformé en acide carbonique.....	1142	1157	1148	1146

En moyenne 1 gramme de plante a donc fixé ou brûlé en dix-huit heures 1148.25 centimètres cubes.

Ce qui donne pour une heure 63.77 centimètres cubes, et pour vingt-quatre heures 1530^{cc}. 48.

Plusieurs objections peuvent être opposées à l'exactitude rigoureuse de ces chiffres : on peut me dire que le poids de plante que je donne est seulement le poids final de la plante et qu'il est par conséquent trop fort; cela est vrai. Le poids initial en effet qui, au début, est une quantité absolument négligeable, a été progressivement en augmentant jusqu'à atteindre un poids voisin de 1^{re},5 p. 100 grammes de bouillon, mais dans les conditions actuelles de la science il est impossible de prendre un poids connu de plante, de le placer dans de bonnes conditions vitales et de l'empêcher de se reproduire; si on le place dans des milieux où il ne se reproduit pas, il se trouve dans de mauvaises conditions, ce qu'il est facile de voir à l'aspect granuleux que prennent les cellules, et alors les chiffres qu'on obtient sont évidemment faux.

J'aurais pu, il est vrai, partir d'un poids connu de plante et en me plaçant dans les mêmes conditions que celles dans lesquelles je m'étais placé, arriver à un autre poids connu de plante ; mais alors j'introduisais dans mon expérience d'autres causes d'erreurs ; la plante eût été nécessairement humide et la quantité proportionnelle d'eau retenue par la plante eût pu varier dans les deux pesées.

Mais en même temps j'introduisais une cause d'erreur bien plus grave, c'était la contamination inévitable par d'autres germes, et il me paraît impossible de l'éviter, quelles que fussent les précautions que j'eusse prises.

Mais si mes chiffres ne sont pas absolument exacts, ils le sont, il me semble, autant qu'il est possible, et ils montrent que le bacille *mesentericus vulgatus* est un être vivant dont l'activité respiratoire, si on la compare à celle des animaux ou des autres végétaux, est considérable ; par exemple, d'après Voit et Pettenkoffer, un homme de 60 kilogrammes, vigoureux, soumis à un régime mixte et à un travail modéré, consomme en vingt-quatre heures 709 grammes d'oxygène : donc chacun des grammes de cet homme en consommait en vingt-quatre heures 0^{sr},011 816 ou 7^{cc}. 1153, tandis que la plante en consomme pendant le même laps de temps et pour le même poids 2^{sr},455 ou 4530^{cc}. 40, soit environ 215 fois plus.

Ce chiffre est comparativement très élevé, il le devient beaucoup moins si, au lieu de prendre pour point de comparaison l'homme, on prend une autre plante inférieure, la levure par exemple. M. Pasteur, en effet, en plaçant de la levure dans de l'eau de levure sucrée, a vu que cette plante absorbait presque son poids d'oxygène en vingt-quatre heures ; mais l'expérience avec la levure était bien plus difficile à exécuter qu'avec le bacille *mesentericus vulgatus*, car il est impossible d'éviter que quelques cellules ne se forment pas à l'abri de l'air. D'un autre côté M. Duclaux, en reprenant les chiffres d'expériences de M. Hensen, arrive à la conclusion que la levure absorbe en une heure 1/8 de son poids d'oxygène ou 3 fois son poids en vingt-quatre heures. Les chiffres que j'ai obtenus sont intermédiaires entre les deux car, d'après mes calculs, le bacille *mesentericus vulgatus* absorbe en vingt-quatre

heures un peu plus que 2 fois son poids d'oxygène, chiffre évidemment trop faible, puisque je ne fais entrer en compte que le poids final de la plante.

De toutes ces expériences il résulte que le bacille *mesentericus vulgatus* :

1° Ne peut se développer qu'en présence de l'oxygène ; qu'il s'empare de ce gaz, que l'atmosphère en soit riche ou pauvre ;

2° Qu'il en fixe une assez grande quantité soit sur lui-même, soit en l'employant à oxyder les matériaux du milieu dans lequel il vit ;

3° Qu'il emploie encore une plus grande quantité d'oxygène à la combustion des matériaux du milieu dans lequel il se développe.

CHAPITRE IX

a. *Dissolution de l'albumine, de la fibrine, du gluten et liquéfaction de la gélatine.*

b. *Transformation du lait et dissolution de la caséine.*

Dans un mémoire précédent, nous avons noté que beaucoup de micro-organismes dont nous avons étudié l'action sur un certain nombre de substances alimentaires, et parmi ceux-ci se trouvait le bacille *mesentericus vulgaris*, ne se développaient pas, si on les ensemençait dans des ballons ne contenant que de l'eau et ces matières, aussi avons-nous dû remplacer l'eau par du bouillon étendu. A cette époque nous ne savions pas qu'il était nécessaire, pour que ce bacille se développât, qu'il eût à sa disposition une matière protéique soluble.

Dans les recherches, que je vais exposer dans ce chapitre, j'ai fait usage pour les mêmes raisons du bouillon étendu (bouillon de veau préparé avec la moitié de son poids de viande hachée, additionné de 1 pour 100 de peptone et étendu de trois volumes d'eau), j'ajoutais à ce bouillon assez de chlorure de sodium pour que sa teneur s'élevât à 0,50 pour 100 et assez de phosphate tribasique de potasse pour qu'il en contînt 0,25 pour 100.

Pour étudier la dissolution de la fibrine du gluten et de l'albumine, j'ajoutais à chaque 100 grammes de bouillon faible 10 grammes d'albumine cuite (blanc d'œuf), ou 10 grammes de fibrine humide, ou 10 grammes de gluten pur ayant séjourné vingt-quatre heures dans l'eau froide.

Si on augmente la quantité de ces substances sans augmenter proportionnellement celle du bouillon, leur dissolution ne se fait pas ou bien est considérablement ralentie.

Ces substances étaient introduites dans un ballon d'une capacité au moins double du volume du mélange, puis le tout était stérilisé à l'autoclave à 120°.

Albumine. — Dès le lendemain de l'ensemencement si la culture a été mise à l'étuve à 36°, on constate généralement à la surface du bouillon, une légère pellicule formée par les micro-organismes. L'albumine qui occupe le fond du ballon conserve sa couleur blanche. Le second jour, la membrane ou pellicule formée par les micro-organismes est plus épaisse, le bouillon, s'il était encore trouble la veille, est redevenu clair, l'albumine paraît être toujours intacte.

Il n'en est pas de même le troisième jour, la membrane à la surface est plus épaisse, souvent légèrement plissée et les cubes d'albumine sont transparents, généralement ils ne le sont pas en entier, mais seulement en partie, à leur centre se trouve un noyau d'albumine blanche, ils sont en même temps légèrement gonflés, mais ce gonflement n'est que très peu marqué. Le bouillon est toujours clair.

Le quatrième jour, les cubes d'albumine sont gonflés et désagrégés en petits fragments qui occupent le fond du vase, ces fragments ont des angles mousses, il est fort difficile de dire si l'albumine est dissoute en partie, mais cela me paraît probable, en tout cas les jours suivants on la voit disparaître de plus en plus et le neuvième jour on n'en aperçoit plus la moindre trace.

En même temps le voile de la surface s'est brisé et les micro-organismes tombent dans le fond du vase où ils forment un dépôt assez abondant.

Le liquide lui-même a pris une teinte plus foncée, du reste comme le bouillon simple dans lequel le micro-organisme aurait été cultivé.

Les phénomènes que je viens de décrire se sont passés dans un ballon, qui était resté au repos; par conséquent, le micro-organisme n'avait d'oxygène qu'à la surface; de plus les micro-organismes étaient presque tous réunis à la surface du ballon, c'est-à-dire à environ 4 à 6 centimètres au dessus de l'albumine.

Je me suis demandé si les phénomènes se passeraient de la même façon si on facilitait l'accès de l'air dans la profondeur du liquide, et en même temps si on rapprochait les micro-organismes de l'albumine. J'ai donc fait l'expérience suivante :

Le 29 février. Mis à l'étuve à 36°, deux ballons exactement

semblables contenant chacun 500 grammes de bouillon faible et 50 grammes d'albumine divisé en cubes.

Le 1^{er} mars. Il existe un voile non plissé mais très net sur les deux, le liquide est presque clair.

L'un A est laissé au repos.

L'autre B est vivement agité pendant quelques minutes, de façon à briser la membrane, à la mêler au liquide et à aérer fortement celui-ci.

Le 2 mars. Le voile qui s'étend sur le liquide du ballon A a augmenté d'épaisseur, il est légèrement plissé. Le liquide est clair. L'albumine est transparente, sauf un noyau au centre de chaque cube.

Sur le liquide du ballon B s'étend un voile, celui-ci est mince, lisse. Le liquide est un peu trouble; l'albumine est transparente, sauf un noyau au centre généralement assez petit. On agite vivement le liquide comme la veille, et on constate que toute la partie transparente des cubes est désagrégée après l'agitation.

Le 3 mars. Le voile qui s'étend sur le liquide du ballon A commence à se dissocier. Le liquide fonce sa couleur tout en restant clair. L'albumine est entièrement transparente, plusieurs cubes sont désagregés.

Il n'y a pas de voile sur le ballon B, mais le liquide, dont la couleur est également plus foncée, est trouble; dans le fond du ballon, on n'aperçoit que quelques rares fragments d'albumine transparente, et un dépôt blanchâtre dû aux micro-organismes.

Le 4 mars. Le voile qui s'étendait à la surface du liquide du ballon A est tombé dissocié dans le fond. L'albumine est divisée en petits fragments, elle paraît être dissoute dans ce liquide.

Dans le ballon B toute l'albumine est dissoute, on n'aperçoit dans le fond qu'un dépôt blanchâtre dû au micro-organisme; la couleur du liquide est aussi plus foncée que celle du ballon A.

Le 6 mars. L'albumine du ballon A est entièrement dissoute.

Cette expérience semble démontrer que l'accès de l'oxygène et le contact des micro-organismes paraissent activer la dissolution de l'albumine. Je me suis demandé si l'attaque

de l'albumine était due aux micro-organismes eux-mêmes ou à une diastase qu'ils sécrétaient. La seconde hypothèse me paraissait la plus probable, car nous avons vu (page 46) qu'ils ne veulent pas vivre sur l'albumine de l'œuf.

Sans parler des expériences que j'ai faites sur les diastases que ce micro-organisme sécrète, sans que l'action vitale de la plante fût mise en jeu, je rapporterai ici quelques expériences, qui pourront nous aider à résoudre cette question.

Nous avons vu que lorsqu'on cultive ce micro-organisme dans un vase haut de forme et avec une assez grande épaisseur de bouillon, les bacilles sont presque tous cantonnés à la surface du liquide, qu'il s'en trouve, au bout de vingt-quatre heures, très peu dans les couches inférieures. J'ai donc fait l'expérience suivante : j'ai pris deux éprouvettes ayant 33 centimètres de hauteur ; dans l'une j'ai introduit assez de bouillon pour qu'il eût une hauteur de 30 centimètres, dans l'autre une seulement de 10 et dans les deux j'ai mis trois cubes d'albumine aussi semblables que possible. J'aiensemencé et mis à l'étuve les deux éprouvettes en même temps et j'ai observé que l'albumine devenait transparente, puis se dissolvait aussi rapidement dans l'un que dans l'autre ; ce qui tend à démontrer que la dissolution de l'albumine est due à un produit sécrété par le bacille.

Pour être encore plus certain que c'était à un produit soluble, à une diastase que l'albumine devait sa transparence — je ne pouvais par ce procédé chercher sa dissolution, — j'ai enlevé le troisième jour un cube d'albumine du liquide de culture. Ce cube qui mesurait 1 centimètre de côté était transparent presque en entier, je l'ai placé dans de l'alcool à 60°, puis dans de l'alcool plus fort, jusqu'à l'alcool absolu ; son durcissement ne me paraissant pas suffisant, je l'ai fait chauffer pendant deux ou trois heures, j'ai alors pratiqué sur lui des coupes de 1/200° de millimètre d'épaisseur et je les ai colorées par la méthode de Gram. L'examen microscopique de ces coupes qui fut fait avec le plus grand soin ne me décéla aucun micro-organisme à leur intérieur ; sur une ou deux je vis quelques rares bacilles à la surface, mais ce fut tout.

Il semble donc bien résulter de ces expériences que ce

bacille dissout l'albumine par l'action d'un produit soluble qu'il sécrète.

Lorsqu'on évapore le liquide dans lequel l'albumine a été dissoute par ce bacille, on perçoit au début une odeur ammoniacale très marquée; de plus le liquide rougit fortement le papier de tournesol, une baguette de verre trempée dans de l'acide chorhydrique et exposée au-dessus de la capsule émet des vapeurs blanchâtres. Il est donc probable que ce micro-organisme a transformé une partie de l'albumine en ammoniaque ou en une amine volatile; cela me paraît d'autant plus probable que des recherches récentes de M. Perdrix (1) ont récemment démontré que la matière azotée du bouillon, du sérum, de la caséine en présence de l'oxygène de l'air se transforme en ammoniaque dans les cultures de la bactériidie charbonneuse.

Je ne puis venir apporter comme M. Perdrix une preuve absolue à cette supposition, car pour le faire il faut des recherches de chimie délicates, et je n'ose les entreprendre.

Lorsque l'odeur d'ammoniaque a disparu et que le liquide commence à se concentrer, on perçoit une très forte odeur de colle forte. Le liquide évaporé jusqu'à sec laisse comme résidu une substance brune, se ramollissant par la chaleur, ayant une odeur de colle forte.

L'odeur ammoniacale est plus marquée, si au lieu de retirer le ballon de l'étuve aussitôt que l'albumine est dissoute, on l'y laisse encore pendant cinq ou six jours; en même temps le liquide, qui était d'un blond clair, se fonce de plus en plus jusqu'à devenir d'un brun d'acajou clair.

Dissolution de la fibrine. — Ce que je viens de dire relativement à la dissolution de l'albumine s'applique exactement à la dissolution de la fibrine par ce micro-organisme, sauf que généralement la dissolution de la fibrine est un peu plus rapide, elle est dissoute au bout de cinq à six jours, au lieu de l'être en huit ou neuf. Ce qui tient sans doute à sa forme filamenteuse, qui offre de plus grandes surfaces que l'albumine divisée en cubes. Car si au lieu de mettre dans le bouillon des cubes d'albumine, on

(1) Perdrix, Sur la transformation des matières azotées dans les cultures de bactériidie charbonneuse. *Annales de l'institut Pasteur*, n° 7, 1888, p. 353.

la bat avec de l'eau, puis qu'on fasse tomber la solution d'albumine dans de l'eau bouillante de façon à l'obtenir coagulée en très petits morceaux, elle se dissout aussi rapidement que la fibrine.

Lorsque la dissolution de la fibrine est achevée, le liquide est généralement plus brun que le liquide de la dissolution de l'albumine.

Chauffé, ce liquide répand d'abord une odeur ammoniacale très franche, puis, lorsque celle-ci a disparu, une odeur se rapprochant de celle de la colle forte, mais en différant cependant.

Dissolution du gluten. — Nous avons vu plus haut que si on ensemait sur du gluten le bacille *mesentericus vulgaris*, on n'obtenait que de pauvres et faibles cultures. Mais lorsqu'on le place dans un bouillon faible comme nous avons fait pour la fibrine et l'albumine, on obtient au contraire de très riches cultures et une dissolution rapide des fragments de gluten. Le gluten dont nous nous sommes servi était du gluten chimiquement pur, sous forme de fragments plats ; nous le ramollissions dans de l'eau froide pendant quelques heures, avant de l'introduire dans les bouillons en le divisant à l'aide de ciseaux en petits morceaux ayant environ 1 centimètre de côté.

Au bout de vingt-quatre heures, la surface du bouillon de culture est couverte d'un voile assez mince, et nullement plissé, le liquide est clair ; vers les quarante-huit heures le voile est beaucoup plus épais, le bouillon n'est plus aussi clair qu'avant ; le troisième jour il est trouble, en même temps le voile est beaucoup plus épais et très plissé ; il est probable qu'une partie de gluten est dissoute, mais il est difficile de l'affirmer. Si on examine un morceau de gluten, on voit que ses bords et sa surface sont d'un blanc grisâtre et qu'il s'en détache avec la plus grande facilité une légère couche.

Le quatrième jour le voile a encore augmenté d'épaisseur, il est plus ridé, il est incontestable qu'une partie du gluten est dissoute ; le liquide est très trouble.

Les jours suivants, le voile se disloque et tombe au fond du ballon, le liquide reste trouble, et la dissolution du gluten est complète vers le huitième ou neuvième jour. Dans

le fond du ballon, il existe un abondant dépôt pulvérulent formé en partie par les micro-organismes (spores et bâtonnets), et une matière sans forme définie. La couleur du liquide filtré est jaune acajou très marquée. Chauffé, il dégage une odeur d'ammoniaque, puis, lorsque celle-ci a disparu, une odeur de pain frais.

Si on conserve le ballon à l'étuve, après que le gluten a disparu, la couleur du liquide se fonce de plus en plus, et en même temps, comme pour l'albumine et la fibrine, la quantité d'ammoniaque (?) paraît augmenter.

Liquéfaction de la gélatine. — Lorsque nous avons donné les caractères des cultures de ce micro-organisme, dans les milieux de cultures les plus usuels, nous avons vu qu'il liquéfiait la gélatine à la température de la chambre, et que cette liquéfaction était très rapide.

Si on place, je suppose, un ballon contenant 400 grammes de gélatine nutritive à l'étuve à 36°, et qu'on l'ait simplementensemencé par piqûre, le lendemain, la surface de la gélatine est couverte d'un voile assez épais et commençant à se plisser; elle est légèrement trouble. Au bout de quarante heures, le voile est très épais, présente de nombreux plis, et est d'un blanc mat légèrement jaunâtre. Si on retire le ballon de l'étuve on constate que la gélatine, qui est complètement limpide, ne se solidifie qu'imparfaitement. Le troisième jour, le voile est encore plus épais, plus plissé, et légèrement plus jaune; la gélatine a perdu entièrement le pouvoir de se solidifier, elle est toujours limpide. Le quatrième jour, le voile commence à se dissocier, la gélatine est toujours claire; le cinquième jour, le voile est tombé au fond du vase, et y forme un dépôt blanchâtre; vers le sixième, pour aller en augmentant chaque jour, la gélatine se fonce en couleur, pour être, vers le dixième jour, très brune.

b. Transformation du lait.

Dans un mémoire précédent, j'ai déjà dit que le bacille *mesentericus vulgatus* sécrétait dans le lait plusieurs diastases agissant sur la caséine; l'une, une *présure*, coagule la caséine, et l'autre, une *caséase*, dissout la caséine.

Mais les expériences sur lesquelles je m'appuyais ayant été faites simplement pour connaître quels étaient les mi-

crobes de la bouche qui étaient capables de dissoudre les substances alimentaires, n'avaient pas été poussées aussi loin que je l'aurais voulu ; ici je vais exposer celles que j'ai faites depuis.

Le lait qui nous a servi pour les expériences que nous allons décrire était préparé de la façon suivante : pour lui enlever toute trace d'acidité, pour le neutraliser, ne voulant pas employer le carbonate de soude, qui le décolore un peu en agissant sur la caséine, je l'agitais fortement, pendant quelques instants, dans un flacon avec de la craie légivée, puis je le chauffais doucement, pendant une demi-heure environ, en l'agitant fréquemment ; après l'avoir filtré à travers une flanelle et l'avoir enfermé dans un ballon flambé, je le stérilisais à 115° pendant vingt minutes. Le lendemain, presque tout le beurre avait gagné la surface, où il formait une couche plus ou moins épaisse ; je décantais alors la partie inférieure du lait, pour l'avoir sans beurre. Ce lait était de nouveau placé dans des ballons flambés, et stérilisé de nouveau à 115° pendant dix minutes.

Au bout de vingt-quatre heures, si on a placé le lait ainsi préparé à l'étuve à 36°, après l'avoirensemencé, on constate que la surface du lait est recouverte par une membrane lisse d'un blanc mat très pur, formée par le micro-organisme et que le lait est coagulé.

Le coagulum, si par exemple le lait avait dans le ballon une hauteur de 4 à 5 centimètres, en occupe plus des trois quarts ; si la hauteur du lait est plus grande, il occupe proportionnellement une moins grande hauteur ; au-dessus du coagulum s'étend une couche de liquide jaune clair.

Le lendemain, c'est-à-dire au bout de quarante-huit heures, le coagulum est beaucoup réduit de volume, en même temps il est plus ferme. Il occupe environ seulement la moitié de la hauteur primitive du lait, le liquide qui le recouvre est toujours d'un jaune clair ; la membrane que le bacille *mesentericus vulgaris* forme à la surface du lait par l'enchevêtrement des bâtonnets commence à se plisser légèrement.

Le troisième jour, le coagulum de caséine est très réduit, c'est à peine s'il occupe le quart de la hauteur du liquide,

il est évident qu'il a été dissous en partie, ce qui en reste est mou, peu dense, se désagrège facilement au moindre choc.

La membrane formée par le micro-organisme est très plissée, mais ne présente cependant jamais l'aspect qu'elle a dans le bouillon nutritif. Elle a un aspect tout à fait particulier, elle est d'un blanc mat, épaisse, et ressemble tout à fait à de la peau de gant blanc.

Le quatrième jour, toute ou presque toute la caséine est dissoute, il est rare qu'il en reste un peu, si on a donné au lait une hauteur non supérieure à 5 centimètres; le liquide est toujours d'un jaune clair; à sa surface il n'existe plus de membrane, mais une couche floconneuse, visqueuse, qui, examinée au microscope, se montre formée de bacilles et d'une substance visqueuse, gommeuse (voir page 14) et de quelques globules gras.

Les jours suivants, le liquide ne change que peu d'aspect, mais généralement, vers le dixième jour, le liquide commence à brunir légèrement, la couche floconneuse formée par le micro-organisme et flottant à sa surface perd sa couleur blanc mat et se brunit aussi légèrement; enfin, vers le vingtième ou vingt-cinquième jour, le lait est transformé en un liquide brun à la surface duquel se trouve encore une couche floconneuse assez épaisse.

Ce liquide porté à l'ébullition ne se trouble pas et donne les réactions des peptones; il est évident que le bacille *mesentericus vulgaris*, cultivé dans le lait, a sécrété au moins trois diastases: l'une, une présure, a coagulé la caséine, la seconde est une caséase qui a dissous la caséine coagulée, enfin la troisième, que nous connaissons déjà, a dissous l'albumine du lait.

Si, lorsque la caséine du lait est entièrement dissoute, on filtre le liquide pour le séparer des micro-organismes et qu'on évapore le liquide clair ainsi obtenu à une température non supérieure à 60° et que, lorsqu'il aura pris une consistance d'extrait, on achève d'enlever toute l'eau en présence de l'acide sulfurique et dans le vide, on obtient une poudre brune orangée d'un goût de caramel.

Le corps renferme beaucoup de sucre de lait, environ plus de la moitié de son poids.

Outre les trois diastases que nous venons de trouver dans une culture du bacille *mesentericus vulgatus* dans le lait, ce microbe forme encore de l'acide lactique dont la présence est facile à constater, si on a pris soin d'ajouter de la craie au lait. L'acide lactique formé ne s'élève jamais à un chiffre bien haut, car 1 litre de lait, laissé dix jours en culture et exposant à l'air une surface de 250 centimètres carrés, condition très favorable pour le développement du micro-organisme, n'a donné que 5^{er},75 de lactate de zinc, c'est-à-dire 2^{er},72 d'acide lactique.

Nous venons de voir que le bacille *mesentericus vulgatus*, avant de dissoudre la caséine, la coagule; il m'a paru intéressant de rechercher si la caséine coagulée, non par la présure, mais par l'acide lactique avant qu'on ensemence le lait, serait dissoute plus vite que celle qui doit être coagulée au préalable.

Dans ce but j'ai, en le chauffant, fait coaguler du lait en lui ajoutant 2 p. 1000 d'acide lactique; mais avant de le stériliser et de l'ensemencer, je l'ai fait chauffer avec de la craie pour neutraliser l'acide lactique, et de plus, pour bien assurer la neutralisation, j'ai ajouté environ 1 p. 1,000 de carbonate de soude.

Un ballon de lait ainsi préparé fut mis à l'étuve à côté d'un autre ballon contenant la même quantité du même lait non coagulé. Le ballon du lait non coagulé avait sa caséine entièrement dissoute le cinquième jour, tandis que la caséine du lait coagulé spontanément ne fut dissoute que le dixième jour.

Dans une autre expérience, je n'ai pas neutralisé le lait qui contenait un peu moins de 2 p. 1,000 d'acide lactique, la dissolution de la caséine ne fut jamais complète, même après plus d'un mois.

Dissolution de la caséine. — Pour faire attaquer la caséine par le bacille *mesentericus vulgatus*, il n'est point nécessaire de l'introduire dans du bouillon faible; en effet la caséine est soluble en partie dans les solutions de sels alcalins; or nous avons vu que le phosphate de potasse favorise énormément le développement de ce micro-organisme, il suffit donc d'en ajouter un peu à l'eau dans laquelle on place la caséine pour dissoudre un peu de

celle-ci et fournir au micro-organisme un terrain favorable à son développement.

La caséine qui m'a servi pour mes expériences avait été préparée par coagulation spontanée du lait à froid pour éviter qu'elle ne contint de l'albumine. Après avoir été soumise à la presse pour chasser autant que possible le petit-lait, elle avait été lavée à plusieurs reprises dans l'eau, pour la débarrasser des sels et du sucre, puis soumise de nouveau à la presse, puis séchée à l'air après division en toutes petites masses et, traitée par l'éther pour la débarrasser du beurre, jusqu'à ce qu'une goutte d'éther projetée sur l'eau ne fit plus une tache irisée ; la caséine était alors séchée à l'étuve à 60° jusqu'à ce que toute trace d'éther eût disparu.

La caséine ainsi préparée fut mise à la dose de 3^{er},5 pour 100 dans de l'eau contenant 0,50 pour 100 de phosphate tribasique de potasse. Comme ce mélange donne beaucoup de mousse qui imbibé de liquide les tampons de ouate, si on le stérilise à l'autoclave, je l'ai stérilisé en le portant trois jours de suite à l'ébullition.

Dès le lendemain de son ensemencement le liquide est couvert d'une couche épaisse de micro-organismes, mais la zoogléé qu'ils forment à la surface du liquide ne présente que quelques rares plis.

Vers la quarante-huitième heure les plis augmentent et vers le quatrième ou cinquième jour la caséine non dissoute qui se trouve au fond du ballon commence à montrer des signes manifestes de dissolution. Vers le septième ou huitième jour, elle est généralement entièrement dissoute ; et la liqueur prend une teinte ambrée claire.

Si on arrête alors la culture et qu'on évapore, on ne perçoit qu'une faible odeur ammoniacale, si même elle existe, mais si on laisse le ballon à l'étuve, le liquide se fonce de plus en plus, et à mesure qu'il vieillit l'odeur ammoniacale augmente, sans jamais cependant être très forte.

CHAPITRE X

Inversion du sucre.

Dans un mémoire précédent, j'ai dit que le bacille *mesentericus vulgatus* mis en contact avec une solution de sucre l'intervertissait. Je vais décrire ici plus en détail la marche de ce phénomène et donner les résultats d'expériences que j'ai faites depuis la publication de ce mémoire.

Nous avons déjà vu que ce bacille ne se développe pas dans une solution de sucre, même additionnée de sels de potasse, qu'il faut que le liquide contienne une substance albuminoïde (albumine, sérum sanguin, peptone, etc.).

Nous avons aussi vu qu'un excellent milieu pour ce micro-organisme était le bouillon sucré et peptonisé ; il n'est même pas besoin que le bouillon soit concentré, il semble qu'il n'a besoin que d'une faible quantité de matière azotée pour vivre, que lorsque son développement a débuté il le continue très bien aux dépens du sucre presque seul. En effet du bouillon ordinaire étendu de 3 ou 4 fois son volume d'eau lui est aussi favorable que du bouillon non étendu ; dans le bouillon non étendu, l'inversion du sucre se fait en général un peu plus rapidement pendant les deux premiers jours, sans que ce phénomène soit cependant très marqué, mais dans la suite la marche de l'inversion est la même.

Dans le tableau suivant, je donne la marche du phénomène dans ces deux bouillons, contenant chacun 100 grammes de sucre par litre.

	Bouillon peptonisé ordinaire.	Bouillon peptonisé étendu de 3 volumes d'eau.
	gr.	gr.
Au bout de 24 heures.....	7.54	6.57
— 2 jours.....	14.21	13.52
— 3 —.....	32.16	33.18
— 4 —.....	64.18	63.58
— 5 —.....	72.29	71.96
— 6 —.....	86.39	87.26

La différence qu'on observe étant négligeable, nous avons dans toutes nos expériences employé du bouillon étendu de trois volumes d'eau.

1^e *Expérience*. — Le 10 janvier 1888. Nous mettons à l'étuve un ballon de bouillon contenant 20 grammes de sucre candi pour 1000.

Le lendemain le liquide est trouble, il n'existe pas de membrane à la surface du liquide; l'essai à la liqueur de Fehling indique qu'il contient 1^{er},45 de sucre interverti par litre, ce sucre étant estimé en glycose (1).

Le 12 janvier. Le liquide est toujours trouble; un voile commence à se former à la surface du liquide du ballon, qui contient 1^{er},64 de sucre interverti estimé en glycose.

Le 13 janvier. Le liquide est toujours trouble, le voile n'est pas sensiblement plus épais que la veille; le sucre interverti s'élève à 14^{er},74 estimé en glycose.

Le 14 janvier. Le liquide devient moins trouble, la membrane à sa surface s'épaissit; le sucre interverti s'élève à 16^{er},42.

Le 15 janvier. Le liquide est presque clair, la membrane à la surface est plus épaisse; le sucre interverti s'élève à 16^{er},80.

Le 16 janvier. Le liquide est tout à fait clair, la membrane est assez épaisse et légèrement plissée; il contient 17^{er},25 de sucre interverti.

Le 17 janvier. Le liquide présente le même état que la veille; la richesse en sucre interverti estimé en glycose s'élève à 18^{er},35.

Le 18 janvier, idem.

Le 19 janvier, idem.

Le 20 janvier. La membrane à la surface du liquide commence à se dissocier et le liquide à brunir; la richesse en sucre interverti est de 18^{er},41 estimé en glycose.

Le 25 janvier. La membrane est tombée dans le fond; le liquide est clair, mais assez foncé de couleur; la richesse

(1) Le sucre interverti étant formé de une molécule de glucose et d'une de lévulose $2C^{12}H^{12}O^{12} = 360$, le rapport exprimé par $\frac{360}{342} = 1.0526$ donne, multiplié par le résultat de la recherche du glycose, le poids du sucre interverti contenu dans la liqueur.

en sucre interverti toujours estimé en glycose est de $18^{\text{gr}},25$.

Les 26, 27, 28, 29 et 30 janvier, l'aspect du liquide ne change pas, sauf en ce qu'il brunit tous les jours de plus en plus; la richesse en sucre interverti estimé en glycose baisse légèrement chaque jour, à peine un milligramme par 24 heures.

On cesse l'expérience.

Si on fait le calcul, comme 360 grammes de sucre interverti correspondent à 342 grammes de succharose, on

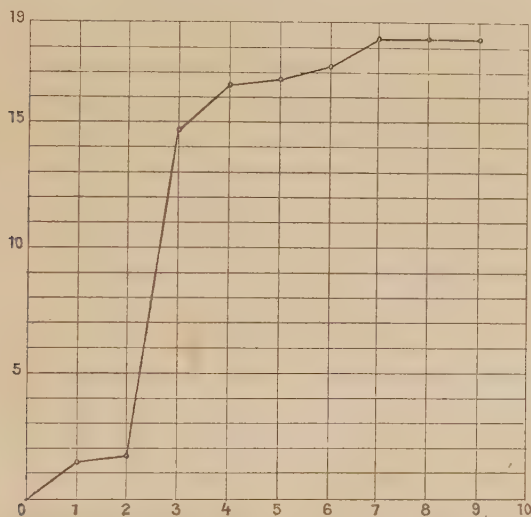


Fig. 13. — Tableau montrant la marche de l'interversion du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 20 p. 1000. Les lignes horizontales indiquent les quantités de sucre interverti trouvé estimé en glycose, les lignes perpendiculaires les jours.

trouve que le liquide contenait $19^{\text{gr}},313$ de sucre interverti représentant $18^{\text{gr}},347$ de sucre cristallisé ou saccharose (1).

Il y a donc $1^{\text{gr}},643$ de sucre que nous ne retrouvons pas; ils peuvent ou être restés dans la liqueur sans avoir été intervertis, ou bien ils peuvent avoir été brûlés, ou bien transformés en autre chose que du sucre interverti par le

(1) S représentant la saccharose, i le sucre interverti, l'équation est

$$S = i \frac{342}{360} = 0.95.$$

micro-organisme. S'ils sont restés dans la liqueur, on devra les retrouver si on la fait bouillir avec un peu d'acide sulfurique, afin d'intervertir le sucre cristallisé. C'est ce que j'ai fait, le liquide après avoir été bouilli avec de l'acide sulfurique m'a donné, essayé à la liqueur de Fehling, la même indication qu'avant, c'est-à-dire que j'ai trouvé $18^{\text{sr}},41$ de sucre réducteur calculé en glycose.

Il est donc probable que le sucre que nous ne retrouvons pas a été brûlé ou transformé en autre chose que du sucre interverti par le micro-organisme.

Pour m'en assurer, car la constatation bien établie de ce fait nous éclaire sur la marche des expériences futures, j'ai mis dans un ballon à fond plat et sur une grande surface pour une épaisseur assez faible de liquide (environ 4 centimètres) une solution de sucre dans du bouillon faible; cette solution de sucre dont une portion avait été bouillie avec de l'acide sulfurique contenait $23^{\text{sr}},52$ de sucre réducteur calculé en glycose; donc

$$23.52 \times 1.0526 = 24^{\text{sr}},757$$

de sucre interverti ou $23^{\text{sr}},519$ de saccharose.

Le ballon fut laissé pendant un mois à l'étuve; puis après qu'on eut ajouté assez d'eau pour ramener la liqueur à son volume primitif, elle fut essayée avec la liqueur de Fehling; j'ai trouvé alors seulement $18^{\text{sr}},18$ du sucre interverti calculé en glycose ou $19^{\text{sr}},136$ de sucre interverti, c'est-à-dire une quantité équivalente à $18^{\text{sr}},18$ de saccharose. Bouillie ensuite avec quelques gouttes d'acide sulfurique, la liqueur essayée de nouveau m'indiqua toujours $18^{\text{sr}},18$ du sucre réducteur.

Le micro-organisme dans cette expérience avait donc fait disparaître ou plutôt, pour ne rien avancer au delà des faits que nous avons constatés, avait transformé en substances autres que le sucre interverti $5^{\text{sr}},34$ de saccharose.

Il ne faudra donc pas dans la suite être étonné, si nous trouvons toujours dans nos expériences un peu moins de sucre interverti que la quantité de sucre mis dans le bouillon peut en fournir; nous saurons que ce sucre a été

ou brûlé ou transformé en d'autres corps non réducteurs de la liqueur de Fehling.

Mais la quantité de sucre ainsi brûlée est toujours très faible proportionnellement au temps, ainsi dans cette expérience il n'a été transformé pendant un mois en substance autre que le sucre interverti que 5^{gr},34 de saccharose.

Dans une seconde 33^{gr},32 de saccharose ont mis quatre mois et 20 jours à disparaître; dans une troisième 35^{gr},11 de saccharose mirent quatre mois et dix jours à disparaître.

Plusieurs points sont intéressants à noter dans ces expériences : à aucun moment l'odeur ammoniacale dégagée en général par les liquides de culture n'est perceptible, je ne l'ai jamais remarquée; de plus la quantité de bactéries formée est excessivement considérable; dans le fond des ballons il existe un dépôt très épais de bactéries formant une couche blanc sale. Ce dépôt examiné au microscope est formé en grande partie par des spores et quelques bacilles, outre la substance englobante visqueuse que nous avons déjà signalée; le liquide brunit un peu, mais jamais il n'atteint la couleur foncée que nous avons vue dans les milieux contenant beaucoup de matières azotées (lait, solution d'albumine, etc.).

Il nous reste à étudier la marche de l'inversion de solutions de sucre plus concentrées que celle que nous venons d'examiner.

Nous commencerons par une solution contenant 50 p. 4000 de sucre candi.

Au bout de vingt-quatre heures le liquide de culture très trouble contient 1^{gr},53 de sucre interverti estimé en glycose par litre :

	gr.
Au bout de 48 heures.....	12.25
— 3 jours	24.10
— 4 —	36.45
— 5 —	44.12
— 6 —	44.56
— 7 —	44.82
— 8, 9, 10, 11 et 12 jours.....	44.82

Le douzième jour j'ai cessé l'expérience et j'ai fait

bouillir une certaine quantité de la liqueur de culture avec de l'acide sulfurique ; l'essai de cette liqueur ainsi traitée me donna également 44^{gr},82 de glycose par litre ; il y a donc eu 5^{gr},182 de saccharose non décelable par la liqueur de Fehling.

Continuons à augmenter progressivement la quantité du sucre dans le bouillon. L'expérience suivante a été faite

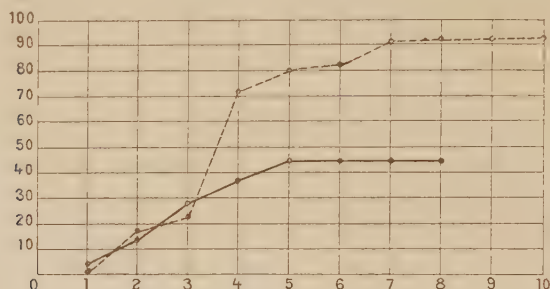


Fig. 14. — Tableau montrant la marche de l'inversion du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 50 et 100 p. 1000. La ligne pleine indique 50 p. 1000, la ligne ponctuée 100 p. 1000.

avec un bouillon contenant 100 grammes de sucre pour 1000 grammes de bouillon faible.

Au bout de vingt-quatre heures j'ai trouvé par litre 0^{gr},75 de sucre interverti estimé en glycose, le bouillon étant seulement légèrement trouble :

			gr.
Au bout de 2 jours			13 50
— 3 —			29.00
— 4 —			71.50
— 5 —			80.00
— 6 —			82.33
— 7 —			90.90
— 8 —			91.04
— 9 —			92.32
— 10, 11 et 12 jours			92.32

Si nous comparons la marche de l'inversion du sucre dans ces deux expériences, nous voyons qu'elle a pris le même temps, et que les courbes de la marche de cette réduction sont sensiblement les mêmes (fig. 14).

L'essai suivant fut fait avec un bouillon contenant 200 grammes de sucre par litre.

Au bout de vingt-quatre heures j'ai trouvé 1^{er},12 de sucre interverti estimé en glycose.

Au bout de 2 jours	gr.
— 3 —	12.35
— 4 —	26.42
— 5 —	72.30
— 6 —	83.36
— 7 —	95.20
— 8 —	102.72
— 9 —	115.00
— 10 —	120.30
— 11 —	133.17
— 12 —	141.28
— 13 —	149.12
— 14 —	155.08
— 15 —	161.27
— 16 —	162.18
— 17 —	174.74
— 18, 19 et 20 jours	181.51
	182.42

L'essai suivant fut fait avec une solution de sucre contenant 400 grammes de sucre par litre, la solution est

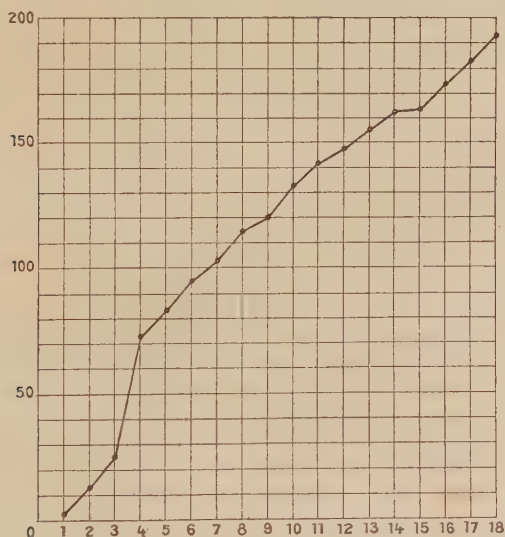


Fig. 15. — Tableau montrant la marche de l'intervention du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 200 p. 1000.

presque saturée; pendant les premiers jours, elle ne se troubla pas, comme c'est le cas ordinaire pour ces solutions, mais elle resta transparente et claire, la membrane

formée par les micro-organismes fut toujours très mince; cependant le sucre était énergiquement réduit; en effet, voici la marche de cette réduction.

Au bout de vingt-quatre heures, il y avait estimé en glycose 31^{er},43 de sucre interverti.

		gr.
Au bout de 48 heures.....		62.43
— 3 jours		90.90
— 4 —		142.85
— 5 —		166.66
— 6 —		250.00
— 7 —		272.45
— 8 —		285.73
— 9 —		285.75
— 10, 12, 14, 16, 18 et 20 jours..		285.75

Une seconde expérience faite dans les mêmes conditions donna les mêmes résultats, le maximum fut atteint le huit-

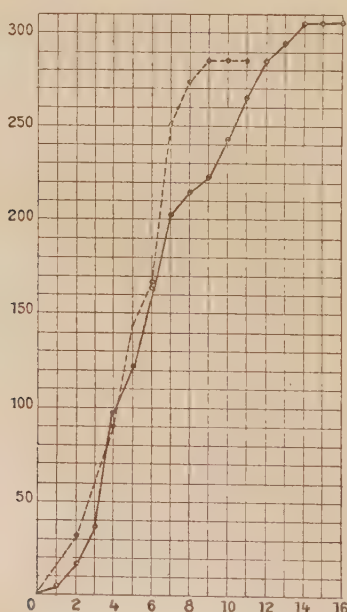


Fig. 16. — Tableau montrant la marche de l'interconversion du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 400 et 450 p. 1000.

tième jour et s'éleva à 291,32, et resta stationnaire jusqu'à la fin de l'expérience qui fut terminée le vingtième jour.

Nous avons encore élevé la proportion de sucre et nous l'avons portée jusqu'à saturation, c'est-à-dire que nous

avons ajouté à 500 grammes de sucre 500 grammes de bouillon, dans un tel milieu le bacille ne se développe pas, le sirop de sucre reste intact.

Devant ces résultats et voyant que le sucre n'était pas interverti lorsque la solution était saturée, qu'il l'était encore lorsqu'elle contenait 40 p. 100 de sucre, j'ai pris un terme moyen et j'ai essayé une solution contenant 450 grammes de sucre pour 1000.

Avec cette solution j'ai trouvé les chiffres suivants de sucre interverti estimé en glycose.

Au bout de 24 heures.....	gr. 4.17
— 2 jours.....	18.40
— 3 —.....	37.28
— 4 —.....	99.44
— 5 —.....	120.53
— 6 —.....	164.42
— 7 —.....	204.75
— 8 —.....	213.79
— 9 —.....	222.22
— 10 —.....	243.54
— 11 —.....	267.18
— 12 —.....	285.68
— 13 —.....	293.55
— 14 —.....	307.69
— 15, 16, 17, 18, 19 et 20 jours..	307.69

Nous fîmes encore deux expériences avec la même solution et nous avons obtenu dans la première le maximum de sucre interverti le neuvième jour, il s'élevait à 296^{gr},34 dans la seconde, le douzième jour il s'élevait à 298^{gr},57.

Deux hypothèses se présentent à l'esprit pour expliquer la différence qui s'observe entre la quantité de sucre mis dans la liqueur, et celle qu'on trouve de sucre interverti; l'une, c'est que le sucre qu'on ne retrouve pas à l'état de sucre interverti a été brûlé, elle ne paraît guère probable, car nous avons vu que le sucre était très lentement détruit ou plutôt transformé en un autre corps que le sucre interverti; l'autre, que lorsque la liqueur contient une quantité voisine de 300 grammes par litre de sucre interverti la diastase sécrétée par le bacille ne l'intervertit plus. La seconde hypothèse est facile à vérifier, il suffit pour cela, après avoir reconnu la quantité de sucre interverti, contenu dans la liqueur, d'ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique à

la liqueur, de la faire bouillir, puis de rechercher de nouveau la richesse en sucre interverti. C'est ce que nous avons fait, dans la première expérience, avec 400 grammes de sucre nous avons constamment trouvé à partir du huitième jour 285^{gr},73 de sucre interverti ; le vingtième après l'ébullition, avec quelques gouttes d'acide sulfurique l'analyse décèle que la liqueur contenait 397^{gr},23 de sucre interverti estimé en glycose, il y avait donc dans la liqueur :

271.44	gr.	de saccharose transformé en sucre interverti.
125.79	—	non transformé.
2.77	—	avaient disparu ou plutôt ne pouvaient pas être décelés par nos procédés d'analyse.

Dans les deux expériences faites avec des solutions de sucre contenant 350 grammes par litre, nous n'avons pas retrouvé dans la première 3^{gr},41, dans l'autre 2^{gr},23 de saccharose, soit sous la forme de saccharose, soit sous celle de sucre interverti.

Nous avons vu précédemment que les liqueurs contenant du sucre interverti s'appauvrissaient petit à petit, probablement parce qu'une partie de ce sucre était brûlée ou transformée en des produits non réducteurs, de la liqueur de Fehling ; en conséquence, on se demande, en voyant la remarquable constance que la liqueur présente en teneur de suc interverti, si la sacchorase non transformée en sucre interverti ne diminue pas progressivement dans la liqueur, à mesure que le sucre interverti est transformé, et si c'est cette interversion qui contribue à maintenir si exactement la même richesse en sucre interverti du liquide.

Pour le savoir, il n'y avait qu'à faire durer une expérience un temps assez long et de calculer de temps en temps la richesse en sucre interverti de la liqueur, puis finalement de chercher la richesse de la liqueur en sucre interverti et en saccharose.

Je fis cette expérience avec une solution contenant exactement 401^{gr},76 de saccharose (1), au bout de dix jours la

(1) L'estimation fut faite avec la liqueur de Fehling en intervertissant par l'acide sulfurique un échantillon de la liqueur.

solution contenait 293^{gr},25 de sucre interverti en glycose, cette proportion de sucre interverti fut retrouvée le 20^e, le 32^e, le 58^e, le 70^e, le 84^e et le 110^e jour; on cessa alors l'expérience et après avoir ajouté quelques gouttes d'acide sulfurique et fait bouillir on obtient 376^{gr},37 de sucre interverti en saccharose, il y avait donc eu 25^{gr},38 de saccharose disparus; par conséquent, pour que la richesse de la liqueur se maintînt toujours à 294^{gr},25 de sucre interverti entre le 40^e et le 110^e jour, il fallait que la saccharose restant dans la liqueur continuât à s'intervertir petit à petit à mesure que le sucre interverti disparaissait.

Le sucre interverti m'a paru disparaître sous deux formes, l'une sert à la nourriture ou plutôt à l'édification de nouvelles cellules du végétal, une autre est transformée en acide carbonique et alcool.

La démonstration qu'une partie du sucre sert à l'édification des cellules végétales est fournie par l'expérience suivante :

On ensemence deux ballons, l'un contenant 100 grammes de bouillon faible, l'autre 100 grammes du même bouillon plus 10 grammes de sucre, on laisse les deux ballons à l'étuve; au bout de trente jours, on pèse par le procédé que j'ai indiqué (V. p. 44) les bactéries des deux ballons et on trouve pour le bouillon faible un poids de 0^{gr},052, pour le bouillon faible avec du sucre 0^{gr},184.

Déjà, simplement à l'œil nu, le dépôt abondant qui existait dans le ballon contenant du sucre indique que la quantité des bactéries formées dans ce ballon est beaucoup plus considérable que celle qui est contenue dans le ballon ne renfermant que du bouillon faible.

Quant à l'alcool formé, il s'élève toujours à une très faible quantité à la fois, je n'ai pu en apprécier la quantité qu'à l'aide de l'ingénieux compte-gouttes pipette de M. Duclaux et je n'ai jamais vu qu'il dépassât 2 p. 100, que le liquide de culture fût distillé au bout de cinq à six jours ou de 1 mois à 1 mois et demi : je pense qu'il diffuse petit à petit dans l'atmosphère de l'étuve à travers le tampon de ouate ferment le ballon; du reste la richesse en alcool du milieu de culture ne peut pas s'élever considérablement, car déjà à la dose de 4 à 5 p. 100 il retarde

et entrave considérablement le développement du bacille *mesentericus vulgatus*, et de 5 à 6 p. 100 il l'arrête d'une façon absolue.

Quant à la formation d'acide carbonique, nous avons vu en étudiant la respiration de ce micro-organisme qu'il s'en forme une quantité assez considérable.

Si ce travail avait été fait au point de vue chimique, j'aurais dû rechercher la quantité d'alcool et d'acide carbonique formée, pour un poids donné de sucre, et si d'autres corps ne s'étaient pas formés à ses dépens; mais comme il est fait surtout au point de vue physiologique, je ne l'ai point fait.

CHAPITRE XI

Transformation de l'amidon.

Nous avons déjà vu (voir page 30) que le bacille *mesentericus vulgatus* se développe excessivement bien sur les pommes de terre cuites, et que son développement y est si caractéristique et si riche que lorsque R. Koch le reconnut comme une espèce particulière, il lui donna le nom de *Kartoffel-bacille*. Il est donc probable qu'il sécrétait une diastase capable de dédoubler l'amidon, car sa végétation sur la pomme de terre est trop exubérante pour qu'il vécût uniquement aux dépens du protoplasma des cellules de ce tubercule.

Or, il est probable qu'avant d'utiliser l'amidon il le transforme en un produit soluble, probablement la glycose ou la maltose. Ces deux sucres réduisant la liqueur de Fehling, je fis pour m'en assurer l'essai suivant : je raclai la surface d'une pomme de terre sur laquelle il avait été cultivé et je fis bouillir le produit du raclage avec de l'eau additionnée d'un peu de soude caustique, le liquide filtré précipitait abondamment la liqueur de Fehling.

Cet essai nous montre que ce bacille a transformé l'amidon de la pomme de terre en une matière sucrée réductrice de la liqueur de Fehling. J'ai alors tenté de le cultiver sur un empois d'amidon fait avec de l'eau, je n'ai pas obtenu la moindre trace de culture, comme nous l'avons déjà vu précédemment, je fis encore infructueusement plusieurs tentatives dans ce sens en ajoutant à l'empois des sels de potasse, qui, comme nous le savons déjà, paraissent lui être des plus favorables. Ayant ainsi acquis la conviction que ce bacille ne pouvait pas vivre sur un empois d'amidon fait simplement avec de l'eau et pensant qu'il lui fallait nécessairement une matière albu-

minoïde, j'ai fait un empois avec du bouillon faible, c'est-à-dire avec une partie de bouillon nutritif et trois parties d'eau. Mes prévisions se réalisèrent; au bout de vingt-quatre heures, si je plaçais mon empois à l'étuve chauffée vers 36°-38°, la surface était recouverte par une belle membrane plissée, formée par le micro-organisme et l'empois essayé alors à la liqueur de Fehling contenait une quantité notable de sucre réducteur.

Mais, avant d'aller plus loin, je dois dire qu'il ne faut pas songer à stériliser l'empois d'amidon à 150°, car à cette température il occupe un tel volume qu'il déborde hors des ballons, de plus une si haute température peut transformer un peu d'amidon en glycose, aussi faut-il employer la stérilisation fractionnée de Tyndall et de Koch et le chauffer pendant quinze minutes trois jours de suite, pendant une heure, à une température variant entre 80° et 90°.

Mais avant d'étudier la marche de la transformation de l'amidon par la diastase que sécrète le bacille *mesentericus vulgatus*, il faut rechercher en quel corps il est transformé, nous savons en effet que les diastases peuvent le transformer soit en maltose et dextrine, soit en maltose, soit en glycose et dextrine, soit enfin en maltose, glycose et dextrine. La diastase du malt ou *amylase* dédouble l'amidon en maltose et dextrine, le liquide pancréatique ou l'extrait de pancréas, d'après Musculus et Hering, forme d'abord du maltose et l'hydrate ensuite. La diastase de l'*Eurotium orizeæ* (Ahlburg) avec laquelle les Japonais font fermenter le riz servant à la fabrication du kôji forme d'abord aux dépens de l'amidon du maltose qu'elle hydrate ensuite pour former du glycose. Il est donc absolument nécessaire de faire la recherche que je viens d'indiquer; pour la faire, commençons à chercher si tout l'amidon est transformé en glycose. Pour faire cet essai préliminaire, j'ai introduit dans un ballon 200 grammes de bouillon et 6 grammes d'amidon, donc 30 p. 1000. Le neuvième jour, tout l'amidon avait disparu, l'essai à la liqueur de Fehling ne me donna que 10^{sr},43 de glycose par litre, au lieu de 32^{sr},10 que l'empois traité par l'acide sulfurique faible au bain-marie m'avait donnés.

Il faut donc que l'amidon ait été transformé en maltose

ou en dextrine, ou enfin qu'il ait été brûlé par le micro-organisme. Quant à la transformation totale de l'amidon en maltose, nous pouvons l'écarter de suite, car le chiffre trouvé est beaucoup trop faible; en effet, la maltose, d'après M. Soschlet, réduit la liqueur de Fehling comme le feraient environ les deux tiers de son poids de glycose, c'est donc environ 20 grammes de sucre réducteur estimé en glycose que nous aurions dû trouver.

Mais il reste encore les hypothèses suivantes : 1° une partie de l'amidon peut être transformée en dextrine. Pour le savoir, j'ai ensemencé trois ballons contenant chacun 500 grammes d'un empois d'amidon à 40 p. 1000, puis, lorsque tout l'amidon fut transformé, c'est-à-dire qu'au microscope il n'était plus possible de trouver trace de grains d'amidon et que la teinture d'iode ne donnait plus de coloration bleue, j'ai concentré les liqueurs, après les avoir filtrées pour les débarrasser des micro-organismes, puis je les ai traitées par l'alcool à 90°, afin de profiter de l'insolubilité de la dextrine dans l'alcool. J'ai ainsi constaté que le liquide contenait un ou des sucres solubles dans l'alcool et un corps insoluble dans ce dernier; ce dernier corps était de la dextrine; 2° tout l'amidon est transformé en maltose et dextrine et une partie de cette maltose est brûlée; s'il en est ainsi 0^{sr},15 du produit qu'on obtient par l'évaporation de l'alcool de l'opération précédente, desséché à 100°, devront réduire exactement 20 centimètres cubes de liqueur de Fehling.

Or, si on dissout dans 200 centimètres cubes d'eau 0,15 de ce produit, il faut seulement 142 centimètres cubes pour réduire complètement la liqueur de Fehling. Ce n'est donc pas de la maltose pure que nous avons, mais de la maltose et de la glycose.

Il restait à savoir si, les conditions restant les mêmes, la quantité de maltose, de glycose et de dextrine formée restait toujours la même. Dans le but de résoudre cette question, je fis l'expérience suivante. Dans deux ballons de 2 litres de capacité, j'introduisis 1 litre d'empois d'amidon fait avec du bouillon et contenant 30 grammes d'amidon par litre, je les ensemençai en même temps et les ballons furent placés l'un à côté de l'autre à l'étuve à

36°-38°; le huitième jour, la teinture d'iode ne décelait aucune trace d'amidon, la liqueur de Fehling indiqua que l'un des ballons A contenait 41^{gr},74 de sucre réducteur estimé en glycose. Le liquide du second ballon B en contenait 10^{gr},53. Le liquide de chacun des ballons après filtration fut évaporé jusqu'à ce qu'il fût réduit à 50 centimètres cubes. Les liqueurs furent reprises par l'alcool à 90° puis jetées sur un filtre, on obtint ainsi avec le liquide du ballon A 6^{gr},24 de dextrine, l'alcool évaporé abandonna 16^{gr},25 de mélange de maltose et glycose. Le liquide du ballon B donna d'un côté 7^{gr},10 de dextrine et 15^{gr},73 de mélange de maltose et de glycose. De chacun des produits de l'évaporation de l'alcool on préleva ensuite 0^{gr},15 qui furent dissous séparément dans 200 centimètres cubes d'eau. 139 centimètres cubes du liquide venant de A précipitèrent 20 centimètres cubes de liqueur de Fehling, tandis qu'il n'en fallut que 137 du liquide venant de B.

Ce qui démontre que, dans des expériences faites avec les mêmes matières dans les mêmes conditions et en même temps : 1° le sucre réducteur n'est pas égal; 2° la quantité de dextrine formée n'est pas la même; 3° la proportion de maltose et de glycose est également variable.

Du reste, Bourquelot (1) a déjà signalé que lorsque la diastase de l'orge germé a exercé son action au maximum sur l'empois d'amidon, la liqueur qui en résulte ne précipite complètement la liqueur de Fehling que comme la cinquante et unième ou cinquante-deuxième partie de ce qu'elle devrait précipiter si l'amidon avait été entièrement transformé en glycose, la diastase qui est sécrétée par le bacille *mesentericus* paraît exercer une action moins complète que celle produite par celle de l'orge germé ainsi que nous le verrons plus loin.

Dans ces conditions, j'ai pensé que je devais me contenter de rechercher la marche de la transformation de l'amidon en me contentant d'évaluer le sucre réducteur en glycose et de constater à la fin des expériences, s'il y avait lieu, la quantité d'amidon restante, car s'il est relativement facile

(1) Bourquelot, *Sur les caractères de l'affaiblissement éprouvé par la diastase (amylase) sous l'action de la chaleur.*

d'isoler la dextrine de la maltose et de la glycose, en mettant à profit l'insolubilité de la dextrine dans l'alcool, il n'en est pas de même de la maltose et de la glycose : pour isoler ces deux substances l'une de l'autre, il est nécessaire de faire de nombreuses et délicates manipulations, aussi ce travail n'étant nullement un travail de chimie, je ne l'ai point tenté et je me suis contenté d'estimer en glycose le pouvoir réducteur de l'empois d'amidon dans lequel j'avais cultivé mon micro-organisme.

La marche de la transformation de l'empois d'amidon est différente, suivant que l'empois est plus ou moins riche en amidon; aussi, avant de tirer des conclusions, donnerai-je simplement la copie de quelques expériences.

Le 12 mars. Mis dans douze ballons de 250 grammes de capacité 100 grammes d'un empois contenant 20 grammes d'amidon pour 1000 de bouillon faible, puis après stérilisation et ensemencement, on les place à l'étuve au voisinage l'un de l'autre.

Une portion de cet empois fut traitée par quelques gouttes d'acide sulfurique et chauffée au bain-marie pour transformer l'amidon en glycose, j'ai trouvé 22 grammes de glycose par litre, chiffre un peu inférieur au nombre théorique qui est 22.22, car 162 grammes d'amidon ($C^{12}H^{10}O^{10}$) produisent par hydratation 180 grammes de glycose ($C^{12}H^{12}O^{12}$) d'où $\frac{180}{162} = 1.11...$ et 1 gramme de glycose équivaut donc à $\frac{162}{180} = 0,9$.

Le 14. Il existe à la surface de l'empois un voile assez épais légèrement plissé, le liquide immédiatement en dessous du voile est clair, transparent, jaunâtre; en dessous, c'est-à-dire sur une hauteur égale aux deux tiers de la hauteur totale du liquide, il est blanchâtre.

Le liquide renferme 5^{gr},50 de glycose par litre.

Le 16. Le voile est plus plissé et commence à se fonder légèrement, le liquide sous-jacent est presque entièrement transparent et jaunâtre, il est blanchâtre sur une hauteur égale à $1/5^e$ de la hauteur totale.

Le sucre réducteur équivaut à 5^{gr},60 de glycose par litre.

Le 18. La couleur du voile est assez foncée, jaune brun clair, la plus légère agitation le déchire, le liquide sous-

jacent, sauf un très léger dépôt dans le fond du vase, est jaune et clair.

Le sucre réducteur équivaut à 5^{es},65 de glycose par litre.

Le 20. Le voile est dissocié, de grands lambeaux nagent dans le liquide, qui est, sauf une légère couche au fond du vase, transparent et jaunâtre.

Le sucre réducteur équivaut à 5^{er},80 de glycose par litre.

Le 22. Le voile est complètement brisé, il est précipité au fond du ballon où il forme un dépôt.

Le sucre réducteur équivaut à 6^{es},34 de glycose par litre :

	gr.
Le 24.....	5.47 par litre.
Le 26.....	2.22 —
Le 28.....	1.74 —
Le 30.....	0.94 —
Le 1 ^{er} avril.....	0.66 —
Le 3 —	0.00 —

Une seconde expérience faite dans les mêmes conditions

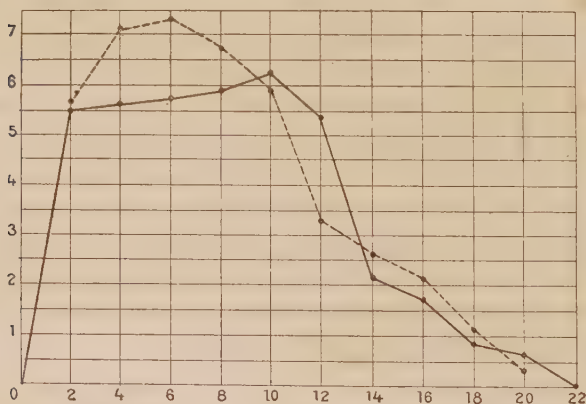


Fig. 17. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon par le bacille *mesentericus vulgatus* dans un empois contenant 20 p. 1000 d'amidon sec. La ligne pleine indique la première expérience. La ligne brisée la seconde.

et avec la même quantité d'amidon nous donne des résultats absolument identiques.

Seulement le voile ne tombe au fond du vase que le

douzième jour au lieu du dixième. Les quantités de sucre réducteur estimées en glycose ont été :

	gr.	
Le 2 ^e jour.....	5.60	par litre.
Le 4 ^e —	7.40	—
Le 5 ^e —	7.40	—
Le 6 ^e —	6.74	—
Le 7 ^e —	5.87	—
Le 10 ^e —	3.32	—
Le 12 ^e —	2.56	—
Le 14 ^e —	2.60	—
Le 16 ^e —	2.10	—
Le 18 ^e —	1.15	—
Le 20 ^e —	0.45	—

Le 1^{er} mai. Mis dans douze ballons une quantité égale d'un empois contenant 40 grammes d'amidon pour 1,000 de bouillon, cet empois commence à être sensiblement plus dense que le bouillon ; après stérilisation on ensemence et on met à l'étuve à 36-38°, l'essai après traitement par l'acide sulfurique et la vapeur d'eau donne 43^{gr},95 de glycose par litre, chiffre inférieur de 0,49 au chiffre théorique qui est de 44,44.

Le 2. A la surface de l'amidon s'étend une membrane blanche épaisse fortement plissée, en dessous d'elle une très mince zone d'un liquide clair et transparent ; j'en prélève, avec une pipette flambée, 10 centimètres cubes ; ceux-ci essayés avec la même quantité de liqueur de Fehling ne la décolorent pas complètement, mais donnent cependant l'indication qu'il y a déjà un peu de sucre réducteur.

Le 3. La membrane est encore plus épaisse, la zone de liquide clair jaunâtre et transparent qui se trouve entre la membrane et l'empois a une hauteur de 2 centimètres environ.

Le sucre réducteur estimé en glycose est 2^{gr},41 par litre.

Le 5. La membrane commence à donner des signes de désagrégation ; sa couleur qui était avant d'un blanc pur passe au blanc sale ; le liquide clair et transparent a une hauteur de 4 centimètres.

Le sucre réducteur estimé en glycose est de 9^{gr},43 par litre.

Le 7. La membrane est précipitée au fond du ballon et mêlée avec l'empois, qui n'occupe plus qu'un centimètre de hauteur.

Le sucre réducteur estimé en glycose est de 9^{sr},62.

Le 9, même aspect. Le sucre réducteur estimé en glycose est de 9^{sr},86.

Le 11. Le liquide commence à se foncer ; il existe toujours dans le fond du ballon une couche formée par l'amidon non transformée en glycose et les micro-organismes.

Le sucre réducteur estimé en glycose est de 11 ,99.

Le 13, *idem*. Le sucre réducteur estimé en glycose est de 11^{sr},99.

Le 17. Même aspect, sauf que le liquide se fonce de plus en plus.

Le sucre réducteur estimé en glycose est 11^{sr},99 par litre.

Le 21. Même aspect, le sucre réducteur estimé en glycose est de 11^{sr},79 par litre.

Le 26. Ce précipité existant dans le fond du ballon paraît être moins abondant, on dirait qu'il n'y a presque plus d'amidon, l'examen avec la teinture d'iode confirme ce fait.

Le sucre réducteur estimé en glycose est de 11^{sr},99 par litre.

Le 30. Le précipité existant dans le fond du ballon ne se colore plus par la teinture d'iode.

Le sucre réducteur est estimé à 11^{sr},99 par litre.

On ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique et on place le ballon au bain-marie, puis on fait l'essai avec la liqueur de Fehling, qui donne également 11^{sr},90 de glycose par litre.

Une seconde expérience faite dans les mêmes conditions et pendant le même laps de temps me donna des résultats absolument identiques ; la quantité maximum de sucre trouvé estimée en glycose fut de 10^{sr},86 par litre.

Comme on le voit par ces deux expériences, la quantité de glycose trouvée dans l'empois d'amidon sur lequel on cultive le bacille *mesentericus vulgatus* augmente proportionnellement à la quantité d'amidon contenue dans l'empois, il m'a paru que je devais rechercher comment il agirait sur un empois encore plus riche.

Voici les expériences que j'ai faites dans ce sens :

Le 22 mai. Mis dans des ballons un empois contenant 80 pour 1,000 d'amidon, cet empois est très épais, il forme une masse presque solide, on les ensemeince et on les place à l'étuve à 36-38°.

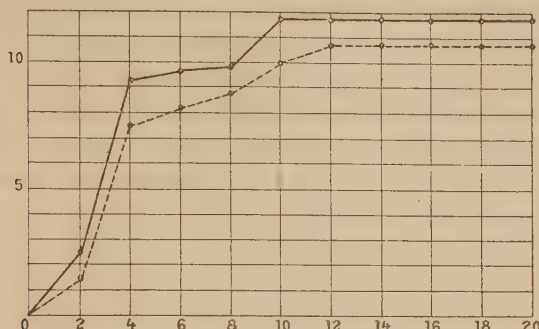


Fig. 18. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon par le bacille *mesentericus vulgaris* dans un empois contenant 40 p. 1000 d'amidon sec. La ligne pleine indique la première expérience. La ligne brisée la seconde.

Le 24. A la surface de l'empois s'étend une membrane blanche assez épaisse et plissée, elle est soulevée par place par des bulles gazeuses, la masse de l'empois qui était elle-même homogène est divisée en gros fragments par ses bulles gazeuses, ce qui fait que l'empois est formé de gros blocs entre lesquels se trouve un liquide clair et transparent et des bulles gazeuses. Le liquide très peu abondant en dessous de la membrane contient 2^{gr},43 de sucre estimé en glycose.

Le 26. Il y a un peu plus de liquide en dessous de la membrane, on remarque toujours de grosses bulles gazeuses dans l'empois, celles-ci soulèvent la membrane en de nombreuses places. Le sucre réducteur estimé en glycose est de 4^{gr},54 par litre.

Le 28. Pas de changement, sauf en ce que le liquide existant entre la membrane et l'empois est un peu plus abondant. Le sucre réducteur estimé en glycose est de 5^{gr},74.

Le 30. La membrane est dissociée, elle est noyée sous le liquide recouvrant l'empois qui ce jour-là a une hauteur de 4 à 5 centimètres. Le liquide commence à foncer légèrement sa couleur. Le sucre réducteur estimé en glycose est 9^{gr},41 par litre.

Le 2 juin. Pas de changement, sauf en ce que le liquide est encore plus abondant et en ce que la couleur brune devient très manifeste, le dépôt d'amidon et de micro-organismes qui existe dans le fond du ballon, qui était d'un blanc bleuâtre au début, commence aussi à devenir brunâtre.

Le sucre réducteur estimé en glycose est $33^{\text{gr}},33$ par litre.

Le 6. Le liquide est plus foncé, d'un brun sale, le dépôt lui aussi est devenu complètement sale, il occupe environ la moitié de la hauteur totale du liquide, en même temps il reprend une odeur d'acide butyrique assez marquée, surtout lorsqu'on le chauffe.

Le sucre réducteur estimé en glycose est de $33^{\text{gr}},33$ par litre.

Le liquide est tout à fait brun, le dépôt au fond du ballon formé par l'amidon non liquéfié et les micro-organismes est d'un brun sale ; l'odeur d'acide butyrique est plus marquée que les jours précédents. Le sucre réducteur estimé en glycose est de 33 gr. par litre.

Le 20. Même aspect et même quantité de sucre réducteur.

Le 30. Même aspect et même quantité de sucre réducteur. Comme l'expérience paraît être arrivée à un stade d'arrêt, on la cesse et on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique au ballon, après s'être assuré à l'aide de la teinture d'iode qu'il y avait encore de l'amidon non hydraté et on chauffe au bain-marie ; la liqueur est essayée après ce traitement, on trouve $62^{\text{gr}},45$ de glycose, il restait donc dans la liqueur assez d'amidon pour fournir $29^{\text{gr}},12$ de glycose ou $26^{\text{gr}},20$ d'amidon.

Une seconde expérience faite exactement dans les mêmes conditions me donna des résultats exactement semblables ; la quantité maxima de sucre réducteur fut atteinte aussi le dixième jour au lieu du huitième et elle s'éleva seulement à $29^{\text{gr}},42$. L'expérience fut continuée jusqu'au soixantième jour.

Le 29 mai. Mis dans des ballons un empois contenant 120 grammes d'amidon p. 1,000 de bouillon, cet empois forme une masse homogène et dure tenant d'un seul bloc dans les ballons. On ensemente et on place les ballons à l'étuve au voisinage l'un de l'autre.

Le 31. La surface est recouverte par une membrane d'un blanc éclatant peu plissée, soulevée par places par des bulles gazeuses; la masse qui était ferme et homogène est désagrégée par les bulles gazeuses; le liquide est si peu abondant, qu'il est impossible d'en recueillir assez pour faire la recherche du sucre réducteur.

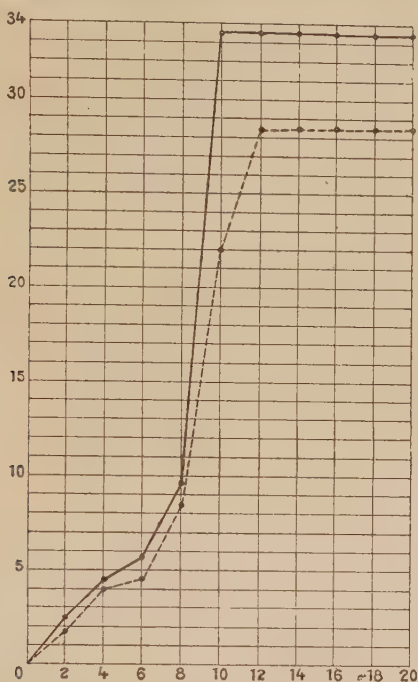


Fig. 19. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon par le bacille *mesentericus vulgatus* dans un empois contenant 80 p. 1000 d'amidon sec. La ligne pleine indique la première expérience. La ligne brisée la seconde.

Le 2 juin. La membrane recouvre toujours la surface, elle est toujours soulevée par des bulles gazeuses; la masse est divisée en plus petits fragments et qui sont eux-mêmes un peu ramollis; une partie de l'empois est liquéfiée, car au-dessous de la membrane se trouve une couche liquide ayant environ 1 centimètre de hauteur.

Le sucre réducteur estimé en glycose est de 4^{gr},32 par litre.

Le 4. La membrane commence à se fonder, le liquide situé en dessous d'elle n'a pas sensiblement augmenté de

quantité. Le sucre réducteur estimé en glycose est de 6^{sr},74 par litre.

Le 6. Même aspect, un peu plus de liquide, en même temps l'empois non transformé est manifestement très ramolli.

Le sucre réducteur estimé en glycose est de 20^{sr},45 par litre.

Le 8. La membrane est tombée dans le liquide qui a augmenté et occupe la moitié environ de la hauteur, qui lui aussi commence à prendre une teinte brune, ainsi que l'empois; en même temps on commence à percevoir une odeur d'acide butyrique. Le sucre réducteur estimé en glycose est 31^{sr},52.

Le 10. Même aspect; la couleur du liquide se fonce de plus en plus, la hauteur du liquide est encore augmentée, mais cela paraît dû à un tassement des grains d'amidon hydratés, car l'empois est entièrement désagrégé et ne forme plus une masse solide, et ce qu'il en reste ressemble à une boue brune avec des points blancs.

Le sucre réducteur estimé en glycose est toujours de 31^{sr},52.

L'expérience est continuée encore pendant vingt-huit jours, on fait de temps en temps des analyses du pouvoir réducteur de la solution et on atteint constamment 31^{sr},52. La couleur se fonce de plus en plus jusqu'à ce qu'elle soit d'un brun fort net, sans cependant atteindre le brun vrai. Le quarantième jour il reste encore dans le fond du ballon une assez grande quantité d'amidon non transformée, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique et on chauffe au bain-marie, on trouve ainsi 98^{sr},43 de glycose, il restait donc dans la liqueur assez d'amidon pour fournir encore 65^{sr},91 de glycose ou 59^{sr},31 d'amidon.

Je refis la même expérience dans les mêmes conditions, les résultats de cette seconde expérience sont identiques à ceux de la première; le maximum de sucre réducteur fut atteint deux jours plus tôt, c'est-à-dire le huitième jour et le chiffre ainsi obtenu fut un peu plus élevé; il s'éleva à 34,93.

Les expériences montrent que le bacille *mesentericus vulgatus*: 1° est capable de sécréter une diastase qui trans-

forme une grande quantité d'amidon, et que la quantité d'amidon transformée est proportionnellement égale à la quantité de matière en présence de laquelle il se trouve.

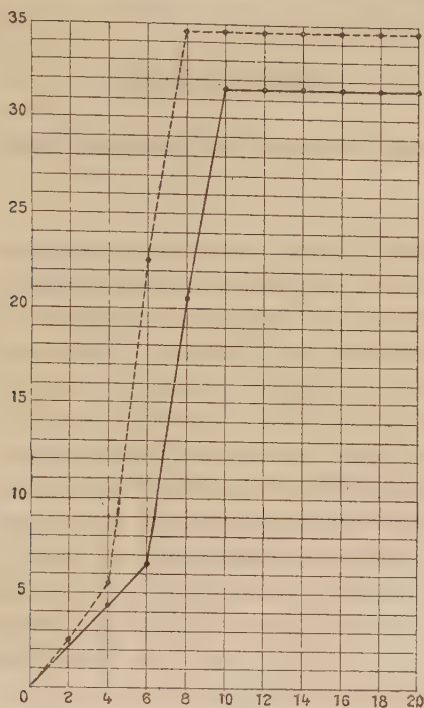


Fig. 20. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon par le bacille *mesentericus vulgaris* dans un empois contenant 120 p. 1000 d'amidon sec. La ligne pleine indique la première expérience. La ligne brisée la seconde.

2° Passé un certain nombre de jours, la transformation de l'amidon s'arrête, car il se forme dans la culture de l'acide butyrique, et nous avons vu précédemment que 1/100 de cet acide arrête la végétation du micro-organisme.

3° Le bacille est incapable de végéter en présence de l'amidon seul ; il faut pour qu'il puisse le faire qu'il trouve outre des sels minéraux une substance albuminoïde.

CHAPITRE XII

Destruction de l'amidon cru.

Nous venons de voir que le bacille *mesentericus vulgaris* cultivé dans des milieux contenant de l'amidon cuit transforme celui-ci, il me vint naturellement à l'esprit, après avoir constaté ses effets sur l'amidon cuit, de chercher s'il avait une action de même ordre sur l'amidon cru ; à cet effet, j'ai fait les expériences suivantes.

1° J'ai introduit 2 grammes d'amidon séché d'abord à 100° pendant plusieurs jours, puis stérilisé dans un tube à 160° pendant une heure, dans 100 grammes de bouillon nutritif. Le bouillon futensemencé et mis à l'étuve ; le micro-organisme se développa sur ce mélange comme dans le bouillon nutritif (v. p. 29), mais l'amidon me parut rester intact. Le dixième jour, je fis l'analyse du bouillon à l'aide de la liqueur de Fehling sans pouvoir déceler la moindre trace de sucre réducteur ; l'iode ajouté au dépôt le colorait fortement en violet, l'examen microscopique ne montrait que des grains intacts.

2° Cependant comme quelques doutes restaient encore dans mon esprit, j'ai tenté de le cultiver sur des pommes de terre crues ; à cet effet après avoir bien lavé la pomme de terre et détaché à l'aide d'une brosse les particules terreuses qui adhéraient à sa surface, je l'ai plongée pendant une heure dans une solution légèrement acide de bichlorure de mercure à 1 p. 1000 afin de tuer tous les germes de la surface, puis après l'avoir séchée dans du papier flambé, je l'ai fendue en deux avec un couteau froid stérilisé, j'aiensemencé mes surfaces de sections. Les deux demi-pommes de terre placées sous une cloche stérilisée montrèrent au bout de vingt-quatre heures une culture manifeste ; à la surface s'étendait une couche mamelonnée

presque semblable à celle qui se développe sur les pommes de terre cuites, mais moins épaisse et moins étendue. Les jours suivants la couche s'étendit et occupa toute la surface de la section; puis vers le quatrième jour elle commença à brunir et les plis de la surface à s'effacer (voir pour plus de détails p. 32).

Le dixième jour j'ai raclé la surface de la pomme de terre, qui était devenue dans presque toute son épaisseur très molle et j'ai fait bouillir le produit du raclage avec de l'eau additionnée de soude caustique, et cherché dans cette liqueur, après l'avoir filtrée, à l'aide de la liqueur de Fehling, s'il existait un sucre réducteur : je n'en ai jamais trouvé la moindre trace, quoique la surface du raclage fût assez considérable (20 ou 30 centimètres carrés par exemple).

Cependant non encore complètement convaincu que le bacille *mesentericus vulgaris* n'avait aucune action sur l'amidon cru et voulant en tout cas avoir la preuve absolue, je l'ai ensemencé de la même façon sur des pommes de terre nouvelles, car nous avons vu que ce bacille se développe admirablement bien dans les milieux riches en matières albuminoïdes. Les pommes de terre nouvelles étaient donc excellentes, car elles sont relativement riches en protoplasma et pauvres en amidon.

Mais elles présentent une cause d'erreur dont il est nécessaire de tenir compte : elles contiennent une quantité assez notable de glycose, aussi fallait-il le déterminer par avance, c'est ce que j'ai fait.

Le 2 mai, après avoir stérilisé la surface de quatre pommes de terre nouvelles par un séjour d'une heure dans le bichlorure de mercure, on les coupa en deux à l'aide d'un couteau stérilisé; une moitié de chaque pomme de terre fut mise sous une cloche à culture, l'autre moitié fut réservée. On sema les moitiés mises sous la cloche à culture et on porta le tout à l'étuve à 36°. Les demi-pommes de terre réservées pesant ensemble 74 grammes furent broyées avec des fragments de verre et 348 grammes d'eau; lorsque la masse fut devenue homogène, on la soumit à la presse, le liquide exprimé essayé à la liqueur de Fehling donne 2 gr. 74 de glycose par litre.

Le 7 mai, la couche des micro-organismes est très épaisse sur les pommes de terre mises en culture, elle est d'un brun sale, les pommes de terre sont si ramollies qu'elles se désagrègent au moindre contact. Elles pèsent ensemble 165 grammes ; on les broie dans un mortier avec trois fois leur poids d'eau (495 grammes), puis on soumet la masse à la presse ; le liquide exprimé, essayé à la liqueur de Fehling donne 2 gr. 68 de glycose par litre. Ce chiffre est sensiblement le même que celui trouvé avec les demi-pommes de terre non mises en culture, il n'est donc pas probable qu'une partie de l'amidon ait été transformée en sucre réducteur.

Cependant ayant examiné au microscope le produit de raclage, je vis que quelques-uns des grains d'amidon contenus dans les cellules paraissaient rongés, j'ai alors pratiqué méthodiquement l'examen histologique des pommes de terre sur lesquelles j'avais cultivé le bacille.

Afin de le faire, des fragments de pommes de terre sur lesquels depuis trois jours j'avais cultivé le bacille *mesentericus vulgatus* furent durcis dans l'alcool absolu ; ces fragments comprenaient la surface de culture et une portion de tissu paraissant n'avoir pas été attaquée par le bacille.

Afin que les rapports ne fussent pas changés, j'ai infiltré ces fragments de celloïdine ; sur des coupes perpendiculaires à la surface simplement examinées dans l'eau ou mieux encore dans le sérum iodé fort, j'ai constaté les faits suivants. Le bacille forme à la surface une couche brune ayant environ un millimètre d'épaisseur, dans laquelle on remarque de suite, grâce à leur réfringence particulière, si la coupe est examinée dans l'eau, ou grâce à leur coloration, si on fait agir le sérum iodé, des grains d'amidon souvent excessivement petits, n'ayant quelquefois pas plus de 2 à 3 μ de diamètre. Ces grains conservent, quel que soit leur volume, leur aspect normal, ils ne sont jamais gonflés ; en outre on aperçoit dans cette couche des cloisons ou plutôt les parois des cellules des pommes de terre ; elles paraissent être intactes.

Les cellules situées en dessous de la couche des micro-organismes sont infiltrées de bacilles, qui ont pénétré à travers la membrane dans leur intérieur ; on les voit entre

les grains d'amidon, dans le protoplasma cellulaire; ceux-ci ne commencent à diminuer de volume que dans les cellules dans lesquelles ils sont en très grand nombre.

Cet examen histologique de la pomme de terre, sur laquelle le bacille *mesentericus vulgatus* avait été cultivé, nous a révélé les faits suivants : 1° L'amidon cru est détruit par ce micro-organisme qui paraît sécréter une diastase propre à le dissoudre;

2° Le bacille vit aux dépens de la matière albuminoïde, qui forme le protoplasma de la cellule;

3° Il ne paraît pas avoir une action sur la cellulose, qui forme la paroi des cellules de la pomme de terre ;

4° Il exerce une action dissociante sur les cellules.

Nous n'étudierons dans ce chapitre que les deux premiers points, laissant les autres pour de futurs chapitres.

Pour utiliser l'amidon, le micro-organisme doit probablement sécréter une diastase capable de le dissoudre, et à moins que cette diastase ne soit sécrétée qu'en quantité tellement petite qu'elle ne liquéfie que juste ce qui peut être employé de suite par le microbe, nous devrons, en opérant sur des quantités suffisamment grandes, trouver de l'amidon saccharifié dans le substratum nutritif de ce bacille.

Nous avons alorsensemencé 10 moitiés de pommes de terre nouvelles, présentant une surface totale d'environ 200 centimètres carrés et pesant ensemble 174 grammes; au bout de 8 jours, la culture, qui dès le premier jour avait envahi toute la surface des sections, était devenue brune, les pommes de terre étaient complètement ramollies; on les broya avec le triple de leur poids d'eau et la bouillie fut ensuite exprimée à la presse; l'essai avec la liqueur de Fehling indiqua qu'elle contenait 2 gr. 3 de glycose par litre. L'essai fait dans les mêmes conditions sur les dix autres moitiés de pommes de terre non mises en culture, avait donné 2 gr. 78 de glycose.

Cette expérience nous montre que le bacille, s'il transforme l'amidon cru en glycose, l'utilise de suite pour sa propre vie.

Mais comme toutes les expériences précédentes et l'examen microscopique ne m'avaient montré qu'une seule chose,

c'est-à-dire que le bacille *mesentericus vulgatus* était capable de faire disparaître l'amidon, mais ne m'avaient pas renseigné sur la quantité d'amidon qu'il était capable de détruire et m'avaient montré que l'attaque de l'amidon ne se faisait qu'à la longue, j'ai disposé l'expérience suivante : des tranches de pommes de terre crues nouvelles furent placées dans un petit cristalliseur à fond plat et peu haut de bords ; celui-ci reposait sur un banc de verre disposé dans un cristalliseur à culture garni de plusieurs doubles de papier à filtrer imbibés de solution de bichlorure de mercure ; enfin le tout était recouvert d'une cloche pénétrant dans le cristalliseur. Afin d'éviter la dessiccation des pommes de terre qui serait arrivée fatalement, car l'expérience était longue et le tout était placé à l'étuve à 36°-38° ; j'ajoutais de temps en temps un peu d'eau dans la rainure existant entre le cristalliseur et la cloche ; le renouvellement de l'air était assuré par un petit trou percé dans le haut de la cloche et fermé par un tampon de coton.

L'expérience étant ainsi disposée j'ai laissé mes tranches de pommes de terre qui avaient environ 1 centimètre à 1 centimètre 1/2 d'épaisseur à l'étuve pendant vingt jours. Elles étaient au bout de ce temps complètement ramollies, réduites à l'état d'une masse pulpeuse brune répandant une odeur fade, que je ne puis comparer à aucune odeur connue. Cette masse délayée dans un peu d'eau montrait quelques rares cellules de pomme de terre renfermant quelques grains d'amidon considérablement réduits de volume, souvent fusiformes, des parois de cellules remplies de micro-organismes, un nombre considérable de bacilles de toutes les formes que nous avons déjà décrites et une matière granuleuse.

Les grains d'amidon examinés à un fort grossissement montraient leur structure caractéristique ; leur surface était lisse ; sur aucun je n'ai pu apercevoir la moindre trace d'érosion indiquant l'action des bacilles. La quantité des grains d'amidon trouvés dans cette bouillie était minime ; souvent j'étais obligé de faire plusieurs préparations pour trouver une seule cellule en renfermant.

Il est donc de toute évidence que l'amidon est attaqué par le bacille ; cependant il ne paraît point être transformé en

glycose, car l'analyse de la liqueur obtenue en délayant avec de l'eau la bouillie n'en décèla aucune trace.



Fig. 21. — 3 cellules d'amidon de la pomme de terre : 1, cellule simplement isolée de ses voisins par la diastase du bacille ; 2 et 3, cellules de la pomme de terre venant d'une culture âgée de vingt jours, dans la cellule 2 les grains d'amidon sont moins attaqués que dans la cellule 3.

J'ai répété à plusieurs reprises la même expérience dans les mêmes conditions et j'ai constamment obtenu les mêmes résultats. Dans un cas où l'expérience avait duré cinquante jours, je n'ai pas rencontré dans la bouillie un seul grain d'amidon.

Ces expériences me portèrent à tenter à nouveau des expériences qui ne m'avaient pas réussi, mais en me plaçant dans des conditions aussi semblables que possible à celles que j'avais réalisées avec la pomme de terre.

L'analyse chimique de la pomme de terre donne, d'après Moleschott, pour 4 000 parties :

Albuminoïdes	43.23
Amidon.....	154.35
Eau	727.46

J'ai alors formé un mélange de :

Peptone.....	43 parties.
Amidon de pomme de terre.....	450 —
Eau	720 —
Phosphate tribasique de potasse (1)..<	3 gr.

J'ai placé ce mélange sous la cloche humide qui m'avait servi pour les pommes de terre ; le tout fut mis à l'étuve à 36°-38° et le mélange ne fut examiné que le cinquantième jour ; il fut impossible de déceler la moindre trace de sucre réducteur ; l'examen microscopique ne me montra que quelques rares grains d'amidon, et encore étaient-ils

(1) L'eau, la peptone et le phosphate étaient stérilisés ensemble à 120° à l'autoclave, l'amidon était stérilisé à sec dans un tube par un chauffage pendant une heure à 160°, puis le tout était mêlé dans le cristalliseur.

considérablement diminués de volume. Je refis à plusieurs reprises la même expérience, et j'examinai le liquide à divers moments; j'ai constaté ainsi que l'amidon cru ne commençait à être attaqué que vers le septième ou huitième jour.

Tous les amidons en général ne sont pas détruits aussi rapidement; l'amidon de riz l'est moins que celui de la pomme de terre, car il renferme plus de cellulose; j'ai donc tenté avec lui la même expérience qu'avec la fécule; j'ai constaté qu'il fallait un temps plus long pour qu'il fût attaqué. Les grains ne commençaient à montrer une diminution de volume que vers le dixième ou douzième jour, et pour le voir disparaître complètement il fallait laisser la culture à l'étuve pendant soixante-dix à quatre-vingts jours.

L'amidon des haricots est aussi plus difficilement dissous ou brûlé que celui de la pomme de terre, mais moins que celui du riz.

Le fait que ce bacille puisse attaquer et liquéfier l'amidon cru est intéressant, car les micro-organismes connus qui le liquéfient sont peu nombreux : outre les champignons inférieurs (*Aspergillus niger*) on ne connaît que les microcoques trouvés par M. Prillieux (1) dans des grains de blé; comme le bacille *mesentericus vulgatus*, les microcoques de M. Prillieux se développaient dans les points riches en matières albuminoïdes et attaquaient comme lui seulement les grains d'amidon par la périphérie. Ainsi que nous le verrons plus loin, la diastase dissolvant l'amidon s'étend moins loin que celle qui attaque les matières azotées.

Nous avons vu que ce bacille est un de ceux qui se trouvent dans la pâte de boulangerie, qu'il se trouve être également un de ceux qui se trouvent à la surface des grains de blé; je l'ai isolé également de la levure de la grande usine d'Alfort qui fournit la levure des boulangeries : jouerait-il un rôle dans la fermentation panaire? c'est une question que je ne puis résoudre, je me contente de la signaler.

(1) E. Prillieux, Corrosion de grains de blé colorés en rose par les bactéries (*Bull. de la Soc. botanique*, t. XXVI, 1879).

CHAPITRE XIII

Dissociation des éléments cellulaires des végétaux, par une diastase sécrétée par le bacille *mesentericus vulgatus*.

A propos des cultures sur les pommes de terre, nous avons dit que ce bacille paraissait sécréter une diastase capable de dissocier les cellules végétales les unes des autres, et qu'il ne paraissait pas capable de dissoudre la cellulose qui forme la paroi des cellules de la pomme de terre.

Comme son incapacité de dissoudre la cellulose n'est pas absolue, il m'a paru que je devais tenter une série d'expériences pour savoir jusqu'à quel point elle allait. En effet il dissout la cellulose qui entre dans la composition des grains d'amidon, non seulement de la pomme de terre, mais aussi celle des grains d'amidon du riz qui en sont beaucoup plus riches.

Nous savons aussi qu'il dissout la cellulose qui entre dans la composition de la *substance intercellulaire* des cellules de la pomme de terre, car quoique les botanistes ne soient pas, il me semble, complètement fixés sur la nature de cette substance, ils ne la considèrent pas comme analogue au ciment intercellulaire des *épithéliums* des animaux; pour tous elle est une variété de cellulose; quoique les uns pensent qu'elle est simplement la *membrane primaire de la cellule*, que d'autres la considèrent comme une *substance intercellulaire* véritable, que d'autres enfin sans vouloir se prononcer sur sa nature la nomment *substance moyenne des cloisons*.

Voici donc deux variétés de cellulose qui sont attaquées par la diastase sécrétée par ce micro-organisme. Il nous reste à chercher quelles sont les autres variétés de cellulose qui le seront.

A cet effet, j'ai fait plusieurs séries d'expériences, qui peuvent cependant se ramener à deux types principaux.

Dans la première, je cultivais le micro-organisme sur le végétal lui-même, mais pour cela il fallait qu'il fût d'abord assez gros pour que je pusse le stériliser à la surface, par un séjour dans un bain de bichlorure de mercure et que je pusse ensuite le sécher dans du papier flanché, après l'avoir lavé à l'eau stérilisée, puisqu'il contient assez de protoplasma pour permettre au bacille *mesentericus* de se développer.

Dans cette catégorie rentrent les pommes de terre nouvelles et de fin de saison, les haricots, les châtaignes, les navets, les carottes, les pétioles des choux et des diverses salades, les betteraves, les fruits non trop acides, les jeunes tiges de beaucoup de plantes au printemps ou au commencement de l'été.

La seconde série comprend les tissus végétaux ne contenant pas assez de protoplasma pour permettre le développement de ce micro-organisme; aussi au lieu d'ensemencer directement le bacille sur eux, je les introduisais dans un peu de bouillon nutritif, de cette façon ils pouvaient subir l'action de la diastase dissociant les cellules, car des expériences préliminaires faites avec des végétaux sur lesquels il était possible de cultiver le bacille m'avaient appris que dans ces conditions la diastase agissait comme si on avait cultivé directement le bacille sur eux.

Le bacille *mesentericus* cultivé sur des pommes de terre, des haricots, des châtaignes, des navets, des pétioles de feuilles de chou, des asperges, etc., s'y développe plus ou moins bien, suivant l'abondance plus ou moins grande du protoplasma, et la zoogléa qu'il forme à leur surface est plus ou moins plissée, quelquefois elle ne l'est pas du tout; si au bout de deux ou trois jours on agite des fragments de ces végétaux, dans un tube à analyse avec un peu d'eau, on voit que les cellules parenchymateuses, les fibres spirales, les fibres libériennes, etc., formant le tissu sont complètement isolées les unes des autres. Si on les examine à l'aide d'un fort grossissement, on constate que sauf quelques cellules dont le protoplasma est plein de bacilles, les autres ne présentent pas d'altération.

Les cellules et fibres pleines de bacilles sont celles qui se trouvent à la surface du végétal, comme nous l'a montré l'examen histologique d'une coupe de pomme de terre, les autres sont simplement dissociées par la diastase produite par le bacille et qui a pénétré par diffusion dans la profondeur du végétal.

Dans le chapitre relatif à l'amidon cru, nous avons déjà vu que cet amidon n'était attaqué qu'à la longue, lorsque le bacille en plein développement paraissait avoir épuisé la matière albuminoïde en présence de laquelle il se trouvait, en un mot l'amidon qui ne paraît pas être un aliment de *construction* peut en être un d'*entretien*; sachant cela, je me suis demandé si la cellulose formant la paroi des cellules végétales ne pourrait pas être dans ce cas et si ce bacille ne se nourrirait pas avec elle, après avoir épuisé tous les autres matériaux plus facilement assimilables. Comme nous savons déjà que celui qui forme la paroi des cellules de la pomme de terre n'est pas attaqué après plus de quarante jours, j'ai disposé une série d'expériences dans lesquelles nous avons laissé la culture durer pendant trois mois, ces expériences ont été faites avec des tranches de pommes de terre crues et cuites épaisses d'un centimètre, des tranches de jeunes carottes ayant la même épaisseur, des haricots fendus en deux (un cotylédon), des tranches de champignons de couche n'ayant pas plus d'un demi-centimètre d'épaisseur, des asperges fendues en deux suivant leur longueur.

Dans toutes ces expériences nous n'avons pas constaté la moindre trace de dissolution de la cellulose formant les tissus végétaux; l'amidon lorsqu'il en existait était détruit; le protoplasma était envahi par les micro-organismes, les cellules étaient à tel point isolées les unes des autres que (sauf bien entendu pour les champignons) dans la plupart des cas le tissu s'affaissait sur lui-même et qu'il était impossible de l'avoir d'une seule pièce.

J'ai d'un autre côté introduit dans du bouillon et laissé également pendant trois mois des tissus encore plus jeunes, tels que des racines capillaires de diverses plantes, par exemple, du maïs, des lentilles, etc., des fibres de coton, des feuilles sortant du bourgeon, des pétioles jeunes, des

étamines, le mycélium de l'*aspergillus niger*; de plus ces fragments de plantes avaient été jusqu'à un certain point cuits, puisqu'ils avaient été stérilisés à l'autoclave à 115° pendant 20 minutes, ce qui devait favoriser la dissolution de la cellulose; cependant je ne l'ai jamais observée, quoique pour favoriser davantage l'attaque de la cellulose formant les parois cellulaires, j'eusse agité le flacon assez souvent pendant la culture afin de désagréger le tissu.

Ces expériences montrent donc que la diastase dissolvant la cellulose ne peut agir que sur des hydrates de carbone de densité assez faible, elles sont confirmées par les suivantes : il me restait à savoir jusqu'à quel point la diastase dissolvant la *substance moyenne des cloisons* était capable de le faire, pour cela il me fallait essayer son action sur des tissus végétaux de plus en plus durs.

Les premières expériences faites dans cette direction me montrèrent que les cellules de tous les tubercules, les cotylédons de toutes les graines sur lesquelles j'ai expérimenté (à celles dont j'ai déjà parlé il faut ajouter les pois, les fèves, le gland du chêne, les amandes fraîches), toutes les feuilles (limbes et pétioles) sauf celles des conifères, les pétales et les étamines, etc., enfin tous les organes des plantes qui ne sont pas très denses laissaient dissocier par la diastase sécrétée par ce micro-organisme leurs éléments.

Je pris alors pendant les mois de mai et de juin les branches et les tiges de diverses plantes, je les ai divisées en fragments, puis placées dans du bouillon nutritif qui futensemencé avec le *bacillus mesentericus vulgaris*, et j'ai constaté ainsi que presque toutes les tiges des plantes annuelles terrestres et aquatiques, sauf celles des graminées, de quelques composées et de quelques ombellifères laissaient dissocier leurs cellules, leurs fibres libériennes et spirales par la diastase sécrétée par ce bacille.

Quant aux tiges des plantes non annuelles, la diastase sécrétée par ce bacille n'agit que sur la *substance moyenne* des cloisons de la partie tout à fait supérieure des tiges. Pour citer quelques exemples, je dirai qu'elle dissocie les cellules de ce qui est situé au-dessus de la troisième avant-dernière feuille sortie du bourgeon, des tiges de lilas, de

la deuxième des tiges du lierre, de la deuxième également du chêne, de la quatrième du sureau, etc.

Par conséquent, dès que la subérification est un peu avancée, que la formation du bois et du liber l'est également, la diastase sécrétée par ce micro-organisme n'est plus capable de dissocier la *substance moyenne* des cloisons.

J'ai remarqué que toute la partie du végétal sur laquelle peut vivre le micro-organisme peut être dissociée par la diastase qu'il sécrète, et en général par contre toute la partie du végétal, sur lequel il ne peut pas vivre ou vivre d'une végétation très faible, ne peut pas être dissociée par elle.

CHAPITRE XIV

Urée et acide hippurique.

Le bacille *mesentericus vulgatus* se développe assez bien dans l'urine alcaline; dans l'urine acide, il se développe mal ou pas du tout suivant le degré d'acidité.

Il m'a paru intéressant de rechercher si, en se développant dans l'urine, il agissait sur l'urée, s'il la transformait en acide carbonique et ammoniacque en vertu de la formule :



En effet, comme déjà anciennement on le savait, l'urée en présence de matières albuminoïdes se transforme facilement en ce terme ultime de la décomposition des matières organiques; mais nous avons appris depuis que la matière albuminoïde joue simplement le rôle de nourriture pour les micro-organismes qui pullulent dans les solutions d'urée, telles que l'urine exposée à l'air.

Or, beaucoup de micro-organismes se développent dans l'urine, sans qu'ils attaquent l'urée — on pourrait dire — malgré la présence de l'urée, qui est pour eux une substance inerte.

Il se pouvait donc, à priori, que le bacille *mesentericus vulgatus* fût un de ces derniers ou fût au contraire un ferment de l'urée.

Pour le savoir il n'y avait qu'à doser l'urée contenue dans l'urine, avant que le bacille *mesentericus vulgatus* ne fût cultivé dans elle et après. Je me suis servi pour cette recherche d'un instrument familier aux mains du clinicien, l'uromètre d'Esbach.

Voici quelles furent mes expériences : le 10 février 1888, j'ai mis à l'étuve 100 centimètres cubes d'urine neutralisée contenant 16^{sr},8 d'urée.

Le 11 une membrane assez mince s'étendait à la surface de l'urine, le 12 elle était plus épaisse et le 16 elle tombait dans le fond du ballon. Le 20 l'urine avait foncé très nettement en couleur. Le 21 à l'aide d'une pipette flambée j'ai prélevé quelques centimètres cubes d'urine, et je les ai analysés et j'ai constaté que l'urée avait non pas diminué en quantité, mais légèrement augmenté. Il est évident que ce résultat tenait à ce que le liquide du ballon s'était concentré pendant son séjour à l'étuve; aussi ai-je débouché le ballon et ajouté de l'eau distillée pour ramener l'urine à son volume primitif, j'ai alors retrouvé comme précédemment 16^{gr},8 d'urée.

Je refis l'expérience précédente, mais dans un autre ballon j'ajoutai à l'urine son volume de bouillon nutritif, afin d'augmenter les matières nutritives et faciliter ainsi le développement des micro-organismes.

Le 22 février j'enseménçais un ballon A contenant 100 grammes d'urine neutralisée et j'introduisais dans un autre ballon B 50 grammes d'urine et 50 grammes de bouillon nutritif; les deux ballons furent placés à l'étuve au voisinage l'un de l'autre.

Le 23 les micro-organismes formaient à la surface du liquide du ballon A une couche mince mais très nette; sur le ballon B la couche était plus épaisse et légèrement plissée.

Le sixième jour la membrane tomba au fond du ballon A, le huitième seulement pour le ballon B. Je laissai néanmoins mes ballons à l'étuve jusqu'au 18 mars afin de donner aux micro-organismes tout le temps nécessaire pour produire leurs effets.

L'analyse de l'urée faite avec l'hypobromite de soude me donna les mêmes chiffres qu'avant que l'urine et l'urine mêlée de bouillon ne fussent ensemencées, c'est-à-dire 21.42 pour le premier ballon et 10.71 pour le second.

Il semble bien résulter de ces deux expériences que le bacille que nous étudions n'est pas un ferment de l'urée; je m'en suis néanmoins assuré de nouveau en introduisant dans des ballons de bouillon nutritif 2, 4 et 6 grammes d'urée pour 1000 parties de bouillon, et des analyses faites le dixième jour me donnèrent exactement les mêmes chiffres.

Il me restait à savoir — ce qui est peu probable — il a le pouvoir de dédoubler l'acide hippurique en acide benzoïque et en glycole comme le *micrococcus ureæ* (Past.) a le pouvoir de le faire, suivant la formule



Je n'ai jamais pu constater la moindre transformation de cet acide, quoique j'aie pris la précaution de l'introduire dans des ballons riches en matériaux azotés et de conserver pendant longtemps à l'étuve les cultures.

CHAPITRE XV

Sécrétion des diastases.

Nous venons de voir dans les chapitres précédents que le bacille *mesentericus vulgatus* dissout ou plutôt hydrate l'amidon; qu'il en transforme une partie en glycose, une autre en dextrine, et peut-être une autre en maltose; qu'il intervertit le sucre, qu'il coagule et dissout la caséine; qu'il dissout la fibrine, l'albumine, le gluten, etc. Toutes ces diverses actions doivent être produites par des diastases sécrétées par ce micro-organisme.

Il m'a paru qu'il serait intéressant de rechercher la manière et les conditions dans lesquelles étaient produites ces diastases, *sucre, amylase, présure, caséase* et les *diverses diastases dissolvant l'albumine, la fibrine, le ciment intercellulaire des jeunes tissus végétaux*, etc.

Je devais rechercher aussi si toutes ces diastases se trouvaient dans le même milieu nutritif ou si elles se produisaient seulement lorsque le micro-organisme se trouve en présence de l'aliment qu'il doit digérer.

En d'autres termes, ces diastases sont-elles produites par ce micro-organisme d'une façon régulière, quitte à ne pas être employées, si elles ne trouvent pas leur emploi, ou sont-elles produites seulement lorsque la plante peut les utiliser?

Darwin, puis M. Duclaux ont déjà soulevé cette question, et je dirai même que les expériences du professeur à la Sorbonne sont plus probantes que celles du grand savant anglais. En effet Darwin (1) avait cru d'expériences sur les feuilles du *Drosera* devoir conclure que la sécrétion de la diastase est dépendante de la nature de l'aliment. Darwin

(1) Darwin, *Insectivorous plants*, London, 1875. *Digestion power of the secretion of drosera*, p. 85 et suivantes.

plaçait sur les feuilles du *Drosera* de petits éclats de verre, il recueillait le liquide sécrété et il put constater que ce suc ne pouvait pas attaquer de petits cubes d'albumine, d'un autre côté il vit les angles de ces cubes s'émousser lorsqu'il provoquait la sécrétion de la feuille à l'aide d'un peu d'albumine mêlée de salive.

On a objecté à Darwin que les phénomènes de dissolution des cubes d'albumine étaient dus, non à une diastase sécrétée par les feuilles du *Drosera*, mais à l'intervention des micro-organismes, qui naturellement ne tardent pas à envahir une matière albuminoïde humide, surtout lorsqu'elle est humectée avec de la salive.

J'ai tenté sur le *Drosera* quelques expériences pour essayer d'élucider la question, mais je dois dire de suite qu'elles ne me paraissent pas assez concluantes pour que je puisse émettre une opinion. Les voici résumées rapidement. Je plongeais la feuille sur laquelle je voulais expérimenter dans un bain de bichlorure de mercure au millième, pour tuer les micro-organismes se trouvant à sa surface, puis je la lavais à l'eau stérilisée, pour enlever toute trace de bichlorure de mercure, enfin je l'enfermais après avoir placé sur elle un petit fragment d'albumine dans un tube de verre fermé avec un tampon de ouate, pour empêcher les micro-organismes suspendus dans l'air de venir se déposer à sa surface, le pétiole relié à la tige traversait le tampon de ouate.

Les micro-organismes avaient toujours envahi mon cube d'albumine où la feuille ne sécrétait pas; probablement parce que le bichlorure de mercure avait agi sur les cellules glandulaires ou que malgré les lavages il en était resté un peu sur les feuilles.

Je n'ai point poursuivi ces expériences sur les *Drosera*, car je pense qu'on peut les faire avec plus de certitude sur d'autres plantes dites carnivores, les *Nepenthes* par exemple.

M. Duclaux (1) relate un certain nombre d'expériences qu'il a faites dans cette direction avec les Mucédinées — l'*Aspergillus glaucus* et le *Penicillium glaucum*.

La première de ces Mucédinées ensemencée sur une

(1) Duclaux, *Chimie biologique*, Paris, 1881.

solution de lactate de chaux contenant un sel d'ammoniaque ne sécrète en fait de diastase que de l'*amylase*, si on la fait croître sur une solution de sucre elle donne de la *sucrase* et pas d'*amylase*, ensemencée sur du lait on voit apparaître de la *présure* et de la *caséase*.

La seconde sécrète sur le lactate de chaux une *sucrase* et une faible quantité d'*amylase*, sur le lait une *présure* et une *caséase*. En un mot, si l'espèce des cellules joue un rôle dans la sécrétion des diastases formées l'aliment paraît en jouer également un.

Les conditions de développement et de vie du bacille *mesentericus vulgatus* font qu'il est impossible de le faire vivre sur un milieu formé d'éléments dont on connaisse parfaitement la composition. Il est impossible comme nous l'avons vu de le faire vivre, par exemple, sur une solution de lactate de chaux ou de sucre contenant seulement en outre des sels minéraux, il faut qu'il existe dans le milieu sur lequel on l'ensemence des matières albuminoïdes, de sorte que les milieux dans lesquels on le cultive sont toujours fort complexes.

L'étude de la sécrétion des diastases est entourée de difficultés, car ce sont des corps encore fort imparfaitement connus, on sait seulement qu'elles se précipitent lorsqu'on ajoute au liquide qui les contient un grand excès, le double environ de son volume d'alcool à 90° ou d'alcool absolu. On sait aussi qu'elles se laissent entraîner plus ou moins facilement par les précipités, mais on sait également qu'elles s'altèrent très facilement et que dans ces diverses manipulations on les obtient impures, enfin que la purification leur fait perdre une partie de leur force.

Ainsi n'ai-je pas cru, surtout n'étant pas chimiste, devoir tenter de les isoler du liquide qui les contenait et j'ai simplement cherché à constater leur présence et à estimer la quantité sécrétée, par les actions que les liquides de cultures exerçaient.

Mais il se présente une difficulté : les liquides qui contenaient les diastases étaient peuplés de mon micro-organisme et j'aurais pu, si je ne prenais pas des précautions spéciales pour annuler l'action de ces micro-organismes, être induit en erreur par l'action qu'ils auraient exercée.

Plusieurs procédés se présentent pour annuler cet effet :

1° La filtration à travers une paroi de porcelaine; je l'ai rejeté, parce que j'ai constaté, il y a deux ans, que si certaines diastases, par exemple celles du suc gastrique, passent inaltérées à travers les parois du filtre, d'autres, par exemple celle que contient l'infusion de pancréas, sont retenues en partie par les parois du filtre jusqu'à ce que, comme M. Duclaux l'a fait remarquer, on ait fait passer à travers le filtre assez de liquide pour le saturer, mais alors la quantité de diastase arrêtée varie dans chaque opération, j'ai rejeté cette méthode, car mes recherches ont été surtout comparatives.

On peut encore ajouter des antiseptiques aux liquides pour paralyser l'action des microbes, mais quelle est la valeur exacte de cette méthode, c'est ce que l'on ignore; puis là encore on se trouve en présence d'une autre difficulté : quelques-uns de ces antiseptiques, ainsi que M. Duclaux l'a montré, favorisent l'action des diastases, donc leur emploi eût été une cause d'erreur que j'eusse introduite dans mes expériences, car la puissance exacte de cette action est encore mal connue.

Dernièrement M. Dastre a employé le froid à zéro ou au-dessous de zéro, pour entraver l'action des microbes; il a en effet constaté que cette basse température n'entravait que peu l'action des diastases, tandis que celle produite par les microbes l'est.

J'ai préféré entraver l'action des microbes par la chaleur, et cela parce que j'étais sûr qu'au-dessus de 50° mon micro-organisme ne se développait pas, puisque l'action de la diastase est activée par la chaleur; enfin qu'il m'était plus facile d'obtenir une chaleur constante qu'un froid constant.

M. Duclaux, dans une critique qu'il vient de publier dernièrement sur les travaux traitant des diastases digestives, adresse à la méthode de M. Dastre des objections de principes qui semblent pouvoir également m'être adressées; en effet, il dit en parlant du froid qu'employait M. Dastre (1) : « Ce qui est surtout gêné à ces basses tem-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, p. 614, 1888.

pératures (pour moi lisez *hautes températures*) c'est l'éclosion des germes et la multiplication des microbes. Par conséquent un mélange stérile ou faiblement peuplé (lisez encore *fortement peuplé*), mis à la glacière, pourra subir avec le temps des actions de diastases sans redouter beaucoup les actions de microbes. Mais s'il est peuplé d'avance et surtout fortement peuplé, comme le sont les liquides digestifs organiques, il y aura toujours à redouter que le froid n'entrave pas d'une façon absolue la sécrétion des diastases par les microbes présents dans le liquide. »

Dans mon cas, j'accorde volontiers aux personnes qui voudront appliquer à mes expériences cette objection, que la chaleur n'entrave pas la sécrétion des diastases présentes dans l'intérieur des microbes au moment où débutait l'expérience, mais je leur répondrai que c'est justement l'action de ces diastases que j'étudiais et que je ne cherchais pas, comme M. Dastre, à reconnaître ce qui appartenait à la cellule animale digestive de ce qui appartenait à la cellule végétale, le problème que je m'étais posé était plus simple, par conséquent plus facile à résoudre que celui de M. Dastre.

Mais il restait à chercher quelle était la température la plus convenable à employer. En effet si un ballon nutritif mis à l'étuve à 50° ne se peuple pas après plusieurs jours, il est évident que 50° est trop proche de 49°, où on observe un faible développement, d'un autre côté une température trop élevée peut affaiblir l'action de la diastase; ainsi Brown et Heron (1) ont vu que la matière albuminoïde qui est supposée constituer la diastase commence à se coaguler à 60°, d'un autre côté Bourquelot (2) a fait voir que la diastase salivaire s'affaiblit lorsqu'on la porte à une température de 57° ou supérieure, plus tard il a observé le même fait avec la diastase de l'orge germé, mais les températures qu'il a employées étaient supérieures à 60°.

La température que j'avais intérêt à employer pour

(1) Brown et Héron, *Beitrag zur Kenntniss des Starke und den Umwandlungen derselbe*, *Berichte d. ch. Chem. Ges.*, XII, p. 1477, 1879.

(2) Bourquelot, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 3 et 17 janvier 1887 et sur les caractères de l'affaiblissement éprouvé par la diastase (amylase) sous l'action de la chaleur. *Annales de l'Institut Pasteur*, p. 337, 1887.

éviter autant que possible l'action des microbes devait donc être aussi proche que possible de 60°. Pour la connaître j'ai fait l'expérience suivante, sachant que dans le bouillon neutralisé et peptonisé vers le 6° et 7° jour de la culture il existait des quantités notables de sucrase et d'amylase.

Première expérience. — Un ballon contenant un litre de bouillon est dans plusieurs ballons ensemencé, le sixième jour on mêle le liquide de culture avec son volume d'un sirop de sucre contenant 50 grammes de sucre candi cris-

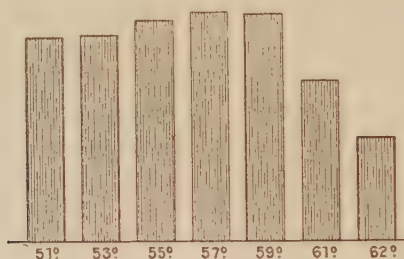


Figure 22 montrant les quantités de sucre réducteur trouvé dans le sirop de sucre sur lequel a agi pendant deux heures à des températures différentes un liquide de culture.

tallisé et très blanc pour 50 grammes d'eau (1); on divise ces mélanges dans plusieurs ballons et on les porte pendant 2 heures à des températures allant de 51° à 63°; on obtient les chiffres suivants de sucre réducteur exprimé en glycose.

		gr.	
Deux heures à	51°.....	13.66	par litre.
—	53°.....	13.66	—
—	55°.....	14.00	—
—	57°.....	14.22	—
—	59°.....	14.22	—
—	61°.....	10.63	—
—	63°.....	6.24	—

(1) Mon sirop de sucre avait été préparé avec du sucre cristallisé (sucre candi) parfaitement blanc, de plus je m'étais assuré qu'il ne contenait pas de sucre réducteur de la liqueur de Fehling, enfin le sirop avait été stérilisé à 120°.

L'empois d'amidon que j'employais était préparé au moment de s'en servir à une température non supérieure à 85° pour éviter qu'une partie de l'amidon ne se transformât en sucre réducteur.

Les liquides de culture étaient tous franchement alcalins, de sorte que je n'avais pas à redouter l'action intervertissante des acides; du reste, je m'assurais toujours avant de procéder à l'essai avec la liqueur de Fehling de la réaction du liquide.

Une autre portion de ce bouillon avait été mise en contact pendant les mêmes laps de temps et aux mêmes températures avec de l'empois d'amidon contenant 20 grammes d'amidon cru et sec pour 1000 grammes d'eau, on obtient les chiffres suivants exprimant toujours la quantité de sucre réducteur en glycose.

Deux heures à 51°.....	gr. 7.57	de sucre par litre.
— 53°.....	9.09	—
— 55°.....	9.09	—
— 57°.....	9.09	—
— 59°.....	9.09	—
— 61°.....	7.84	—
— 63°.....	5.55	—

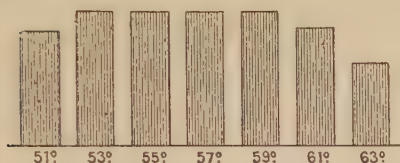


Figure 23 montrant les quantités de sucre réducteur trouvé avec l'empois d'amidon sur lequel a agi pendant deux heures à des températures différentes un liquide de culture.

Une seconde expérience faite dans les mêmes conditions me donna les chiffres suivants, mais le liquide de culture était âgé de 8 jours.

	Pour l'amidon. gr.	Pour le sucre. gr.
Deux heures à 51°.....	5.43	12.23
— 53°.....	6.52	13.85
— 55°.....	6.57	13.85
— 57°.....	6.57	13.85
— 59°.....	6.57	13.85
— 61°.....	4.84	12.31
— 63°.....	3.51	10.28

Ce n'est donc qu'à des températures supérieures à 59° que la chaleur exerce une action destructive sur les diastases sécrétées par le bacille *mesentericus vulgatus*, je me suis alors décidé à employer la température de 57°, car si une température de 50° est trop voisine de celle qui permet le développement des micro-organismes, 59° est trop voisin de 61°, température qui commence à amener une altération de la diastase.

Il restait une autre question à résoudre, c'est celle de

savoir au bout de combien de temps l'action des diastases était achevée, à cet effet j'ai mis les mêmes quantités d'empois d'amidon et de sucre en contact avec le même liquide de culture à une température de 57° , j'ai fait seulement varier le temps.

J'ai obtenu les chiffres suivants :

	Pour l'amidon.	Pour le sucre.
	gr.	gr.
2 heures à 57°	9.82	8.43
6 —	12.23	10.51
12 —	12.50	11.57
18 —	13.51	12.83
24 —	14.21	13.59
48 —	14.21	13.59

Une seconde expérience me donna à peu près les mêmes résultats.

	Pour l'amidon.	Pour le sucre.
	gr.	gr.
2 heures à 57°	8.41	7.32
6 —	11.32	8.23
12 —	12.21	9.42
18 —	12.87	9.95
24 —	13.08	10.25
48 —	13.08	10.25

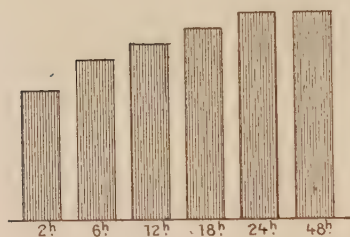


Figure 24 montrant les quantités de sucre réducteur trouvé dans l'empois d'amidon sur lequel a agi à 57° pendant des temps variables un liquide de culture.

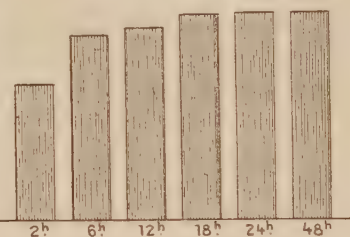


Figure 25 montrant les quantités de sucre réducteur trouvé dans le sirop de sucre sur lequel a agi à 57° pendant des temps variables un liquide de culture.

L'action des diastases paraît être, d'après ces deux séries d'expériences, complètement achevée au bout de 24 heures ; du reste, d'autres expériences que je ne crois pas nécessaire de citer au long me montrèrent que ce fait était exact, aussi me suis-je arrêté à laisser agir pendant 24 heures à la température de 57° les liquides de culture dans lesquels je recherchais par leur action les diastases présentes et la force de celles-ci.

Parmi tous les liquides les moins complexes dans lesquels vit le bacille *mesentericus vulgatus*, il s'en trouve deux qui sont relativement simples, le premier est une solution d'albumine contenant un sel de potasse, le second une solution de peptone contenant également du phosphate de potasse, mais il se développe si faiblement dans le premier liquide que nous n'avons pas cru devoir y chercher les diastases qu'il pouvait renfermer, car la quantité devait en être très minime. Nous avons donc seulement fait nos essais avec le second.

Le 1^{er} mai. Mis à l'étuve 20 ballons contenant chacun une solution à 1 p. 100 de peptone additionnée de 0,5 p. 100 de phosphate tribasique de potasse.

Au bout de 24 heures le liquide de culture mis en contact avec son volume d'empois d'amidon et laissé en présence de celui-ci pendant 24 heures à 57° n'avait pas transformé d'amidon en sucre.

Au bout de 48 heures il avait transformé une quantité égale à 5 grammes par litre.

Au bout de 3 jours.....	gr.	10.25	par litre.
— 4 —	4.65	—	
— 5 —	4.00	—	
— 6 —	2.23	—	
— 7 —	2.22	—	
— 8 —	0.00	—	

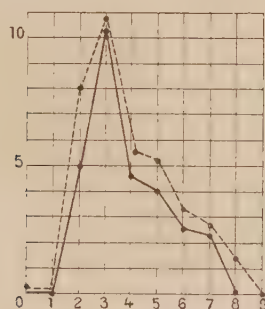


Figure 26 montrant la marche de la sécrétion de l'amylase dans une solution de peptone à 1 p. 100. Le trait simple indique la première expérience, le trait ponctué la seconde. Les traits perpendiculaires indiquent la quantité de sucre réducteur, les horizontaux le nombre de jour qu'à la culture.

Une seconde expérience nous donna les chiffres suivants :

Au bout de 24 heures il transforme une quantité d'amidon égale à 0^{gr},0 par litre.

Au bout de 48 heures		gr.	8.00 par litre.
—	3 jours.....	10.64	—
—	4 —	5.25	—
—	5 —	5.15	—
—	6 —	3.40	—
—	7 —	2.54	—
—	8 —	1.80	—
—	9 —	0.00	—

Une autre portion de ces liquides de culture avait été mise en même temps en contact avec son volume d'une solution à 50 p. 100 de sucre candi; pour la première expérience j'ai trouvé :

Au bout de 24 heures de contact 2^{gr},42 de sucre interverti.

Au bout de 48 heures		gr.	5.60 de sucre interverti.
—	3 jours.....	10.00	—
—	4 —	14.68	—
—	5 —	15.35	—
—	6 —	10.20	—
—	7 —	10.00	—
—	8 —	8.33	—
—	9 —	8.17	—
—	10 —	4.16	—
—	11 —	2.04	—
—	12 —	2.00	—
—	13 —	2.00	—
—	14 —	0.35	—
—	15 —	0.00	—

Pour la seconde expérience j'ai obtenu les chiffres suivants :

Au bout de 24 heures...		gr.	2.47 de sucre interverti par litre.
—	48 — ...	8.00	—
—	3 jours.....	9.95	—
—	4 —	14.27	—
—	5 —	14.74	—
—	6 —	11.02	—
—	7 —	9.05	—
—	8 —	7.27	—
—	9 —	3.45	—
—	10 —	1.55	—
—	11 —	0.00	—

Ces expériences nous montrent donc qu'il existe dans le liquide de culture formé primitivement d'une solution de

peptone deux diastases, l'*amylase* et la *sucrase*; en existe-t-il d'autres? nous avons vu que le bacille *mesentéricus* sécrétait en outre une *présure* et une *caséase*; mis en contact avec du lait, il n'a déterminé ni la coagulation du lait, ni la dissolution de la caséine, qu'il était toujours possible de retrouver dans les liquides quelle que fût la quantité du liquide de culture mis en contact du lait.

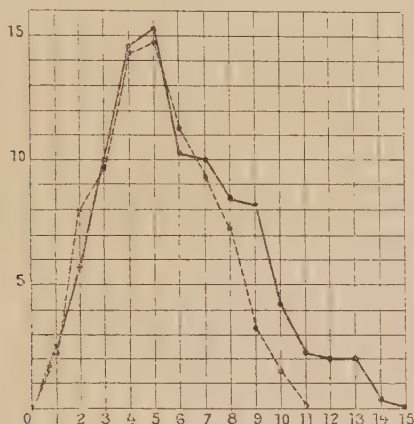


Fig. 27. — Tableau de la marche de la sécrétion de la sucrase dans la solution de peptone à 1 p. 100. Le trait simple indique la première expérience, le trait brisé la seconde.

Il nous fut également impossible de trouver les diastases dissolvant la fibrine et l'albumine, mais comme les expériences faites avec ces corps sont semblables à celles que j'ai faites avec le liquide de culture venant du bouillon simple, que je rapporte plus loin, je n'en dirai rien pour le moment.

Cultivons maintenant notre micro-organisme dans du bouillon de veau neutralisé et peptonisé, nous avons vu que ce milieu lui était des plus favorables et cherchons jour par jour la quantité de diastases qu'il sécrète.

Nous commencerons par l'*amylase*. Une première expérience nous fait voir qu'au bout de 24 heures une partie du liquide de culture, mis en contact avec son volume d'un empois d'amidon, renfermait assez d'*amylase* pour transformer en sucre réducteur estimé en glycose un poids d'amidon de 2^{gr},64 par litre.

Au bout de 24 heures.....	gr.
— 4 jours.....	7.34
— 6 —.....	9.47
— 8 —.....	12.51
— 10 —.....	12.51
— 12 —.....	9.56
— 14 —.....	5.31
— 16 —.....	4.12
— 16 —.....	0.00

Une seconde expérience nous donna les chiffres suivants :

Au bout de 24 heures.....	gr.
— 48 —.....	3.32
— 4 jours.....	8.00
— 6 —.....	10.00
— 8 —.....	8.33
— 10 —.....	2.22
— 12 —.....	0.91
— 12 —.....	0.00

Une troisième expérience nous donna les chiffres suivants ; dans cette dernière au lieu d'employer du bouillon étendu

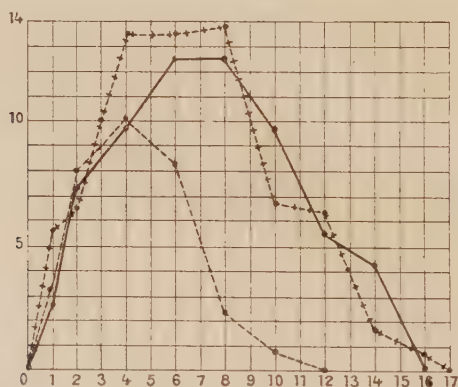


Fig. 28. — Tableau de la marche de la sécrétion de l'amylase dans le bouillon de veau neutralisé et peptonisé. Le trait simple indique la première expérience, le trait brisé la seconde et le trait brisé avec des croix la troisième.

de son poids d'eau, nous avons employé du bouillon peptonisé ordinaire.

Au bout de 24 heures.....	gr.
— 48 —.....	5.73
— 4 jours.....	6.38
— 6 —.....	13.40
— 8 —.....	13.40
— 10 —.....	13.74
— 12 —.....	6.93
— 14 —.....	6.18
— 16 —.....	1.62
— 18 —.....	0.94
— 18 —.....	0.00

Nous avons mis parallèlement d'autres portions des mêmes bouillons en contact avec du sucre candi en solution et nous avons constaté qu'au bout de 24 heures le premier renfermait 5^{gr},43 de sucre interverti.

Au bout de 48 heures.....	gr.
— 4 jours.....	6.28
— 6 —.....	8.35
— 8 —.....	8.40
— 10 —.....	9.24
— 12 —.....	6.14
— 14 —.....	3.74
— 16 —.....	2.62
— 18 —.....	0.94
— 18 —.....	0.00

Le bouillon employé dans la deuxième expérience donna :

Au bout de 48 heures....	gr.		
— 4 jours.....	3.51 de sucre interverti par litre.	—	—
— 6 —.....	9.31	—	—
— 8 —.....	5.60	—	—
— 10 —.....	1.57	—	—
— 12 —.....	0.84	—	—
— 14 —.....	0.67	—	—
— 14 —.....	0.00	—	—

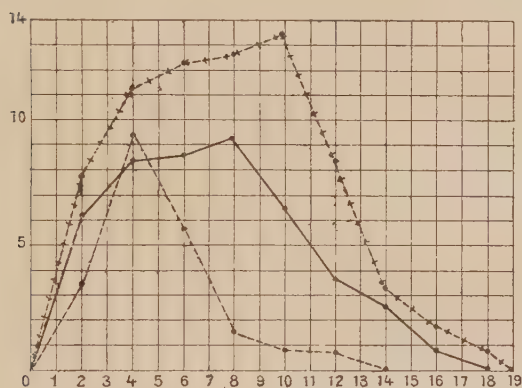


Fig. 29. — Tableau de la marche de la sécrétion de la sucrase dans le bouillon de veau neutralisé et peptonisé. Le trait simple indique la première expérience, le trait brisé la seconde, et le trait brisé avec des croix la troisième.

Le bouillon de la troisième expérience, qui n'était pas étendu de son volume d'eau, donna :

		gr.	7.93 de sucre interverti par litre.	
Au bout de 48 heures....				
— 4 —	11.22	—	—	
— 6 jours.....	12.23	—	—	
— 8 —	12.45	—	—	
— 10 —	13.66	—	—	
— 12 —	7.12	—	—	
— 14 —	2.76	—	—	
— 16 —	1.90	—	—	
— 18 —	0.74	—	—	
— 19 —	0.00	—	—	

Continuons à chercher si ces mêmes bouillons contiennent encore d'autres diastases, parmi celles que nous avons déjà rencontrées se trouvent la présure et la caséase, voyons si elles existent; pour cela il nous suffit de les mettre en contact avec du lait, une expérience préliminaire nous ayant montré la présence de la présure, nous avons mis nos bouillons en contact avec des quantités croissantes de lait.

Nous constatons que le bouillon dans lequel il a été cultivé pendant 24 heures coagule 2 parties de lait.

Pendant 48 heures coagule.....	30 parties de lait.
— 3 jours —	30 —
— 4 — —	16 —
— 5 — —	10 —
— 6 — —	2 —
— 7 — —	0 —

Une seconde expérience nous donne des résultats presque identiques.

Pendant 24 heures coagule.....	3 parties de lait.
— 48 — —	25 —
— 3 jours —	35 —
— 4 — —	35 —
— 5 — —	35 —
— 6 — —	10 —
— 7 — —	4 —
— 8 — —	1 —
— 9 — —	0 —

Quant à la présence d'une caséase il nous fut impossible de la constater, même si nous mettions de grandes quantités de bouillon en contact avec du lait, par exemple 20 parties de bouillon pour une de lait. Il se formait toujours un coagulum de caséine quand nous ajoutions un peu d'acide acétique, puisque nous chauffions. Du reste la pré-

sence des diastases dissolvant les matières albuminoïdes est impossible à constater par ce procédé, ainsi il nous fut impossible de constater ainsi la présence des diastases

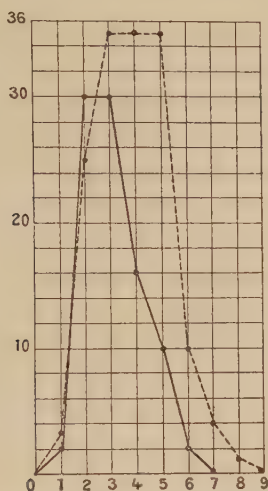


Fig. 30. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans le bouillon de veau neutralisé et peptonisé: La ligne droite indique la première expérience, la ligne brisée la seconde.

dissolvant l'albumine et la fibrine, quoique nous ayons vu plus haut que ce devait être à elles qu'est due la dissolution de ces corps. Nous donnerons ici la copie de notre cahier d'expérience.

Le 25 juin on met dans 10 ballons 200 grammes de bouillon, on lesensemence et on les place au voisinage l'un de l'autre à l'étuve, un des ballons contient un cube d'albumine coagulée.

Le 28 juin le cube d'albumine du ballon est devenu entièrement transparent et émoussé sur les bords. On divise le liquide d'un ballon en deux parties égales, qu'on place à l'étuve à 57°, dans l'une on a mis un cube d'albumine de 5 millimètres de côté, dans l'autre quelques flocons de fibrine. Le 29 on constate que l'albumine et la fibrine sont intactes, le 30 également.

Le 29 le cube d'albumine témoin est très manifestement dissout en partie. Avec le liquide d'un autre ballon on renouvelle l'expérience de hier. Le 30 puis le 1^{er} juillet on constate que l'albumine et la fibrine sont intactes.

Le 1^{er} juillet le cube d'albumine témoin est entièrement dissout, on renouvelle l'expérience des jours précédents avec le liquide d'un troisième ballon, les résultats sont identiques.

Le 3 puis le 5 juillet on tenta la même expérience avec les mêmes résultats.

Quant à la diastase dissolvant le gluten, je ne l'ai point cherchée en présence de l'insuccès que j'ai éprouvé avec celles de l'albumine et de la fibrine, d'autant plus que la présence de ces deux dernières était relativement plus facile à constater que celle qui dissout ce corps.

J'ai, par contre, constaté d'une façon fort nette la présence de la diastase amenant la séparation des jeunes cellules végétales; pour le faire il suffit de mettre en contact des fragments de jeunes tissus avec du liquide de culture à 57°. La démonstration est surtout facile avec des petits cubes de pommes de terre, mesurant 5 millimètres de côté; j'ai trouvé que cette diastase se rencontrait surtout dans le bouillon ayant servi de liquide de culture entre le quatrième et le sixième jour, avant ce terme elle est très peu abondante, après elle a disparu. La contre-épreuve de cette constatation se fait en mettant dans du bouillon simple des cubes de pommes de terre et en mettant côte à côte les ballons à l'étuve, on constate que ceux-ci n'ont pas diminué de consistance et que par simple agitation dans l'eau il est impossible de séparer les cellules l'une de l'autre.

Mais si il nous a été impossible de constater dans les liquides de culture du bacille *mesentericus* en dehors de l'action des micro-organismes la présence des diastases dissolvant l'albumine, la fibrine, le gluten, nous avons pu constater la présence de celle qui liquéfie une autre matière protéique : la gélatine.

Des portions des mêmes liquides de culture, qui nous ont servi pour les expériences que nous avons relatées plus haut, ont été ajoutées à des quantités croissantes d'une solution de gélatine à 10 p. 100 et le mélange a été maintenu à l'étuve à 57° pendant 24 heures, puis refroidi.

Nous avons constaté ainsi que deux parties et demie du liquide de culture de 24 heures empêchait la prise par le refroidissement de 10 parties de la solution de gélatine;

qu'une partie de celui de 48 heures empêchait la gélatinification de 10 parties de gélatine et que déjà dans la proportion d'une demi-partie la solidification n'était pas complète.

Au bout de trois jours de culture, il était nécessaire d'ajouter à 10 parties de gélatine seulement $3/4$ de parties de liquide de culture pour empêcher la solidification. Au bout de quatre jours de culture, il fallait ajouter une partie et demie de liquide de culture pour empêcher la gélatine de se solidifier, le cinquième jour il en fallait également une et demie ; au bout de six jours il en fallait 2 parties et demie ; au bout de sept jours trois et demie ; au bout de huit jours cinq, enfin le neuvième jour avec cinq parties elle restait solide. Nous n'avons pas poussé les expériences plus loin, car la quantité de bouillon que nous aurions ajoutée à la gélatine l'eût tellement étendue qu'il nous eût été impossible de juger si elle ne se solidifiait plus.

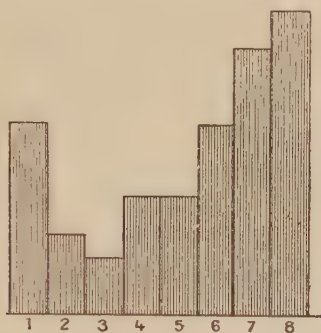


Fig. 31. — Tableau montrant les quantités de liquide de culture qu'il faut ajouter à 10 parties de solution à 10 p. 100 de gélatine pour empêcher sa solidification, les chiffres indiquent le nombre de jours qu'avait le liquide de culture.

Nous avons vu plus haut que l'espèce d'aliment, d'après quelques expériences de M. Duclaux sur les mucédinées, paraît jouer une certaine influence sur l'espèce de diastase sécrétée ; cette question est du plus haut intérêt, car sa solution tendrait à expliquer bien des phénomènes se produisant chez les êtres supérieurs, car chez eux il est difficile d'étudier cette influence, heureusement il n'en est pas de même chez les plantes inférieures, cependant on peut probablement en trouver de plus favorable que le *mesente-*

ricus vulgaris, les mucédinées étudiées par M. Duclaux se prêtent mieux à ce genre de recherches, car elles ne sécrètent suivant les milieux que une ou deux diastases, de plus il est possible de les élever dans des milieux à composition parfaitement connus ce qui n'est pas précisément le cas avec le micro-organisme que nous étudions.

Cependant, maintenant que nous connaissons les diastases sécrétées par le bacille *mesentericus* et les quantités de celles-ci estimées d'après leur pouvoir, lorsqu'on le cultive dans une solution de peptone et dans le bouillon, nous pouvons en modifiant ces milieux essayer quelle est l'influence de l'aliment.

A cet effet nous commencerons par ajouter au bouillon nutritif que nous avons précédemment employé un peu d'amidon, puis du sucre.

Le 10 avril, mis 14 ballons à l'étuve contenant chacun 150 grammes de bouillon nutritif et 0^{gr},3 d'amidon (2 p. 1000).

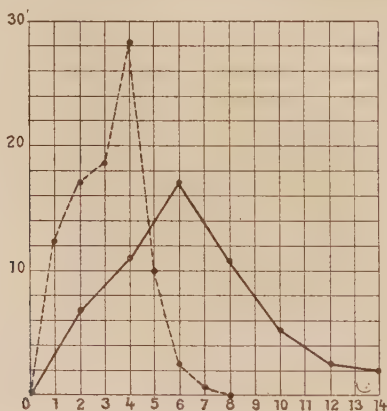


Fig. 32. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de l'amylase dans le bouillon contenant 2 p. 1000 d'amidon. La ligne brisée indique la première expérience, la ligne droite la seconde.

Chaque jour on divise le liquide des ballons en deux portions, l'une fut mise en contact à 57° avec son volume d'un empois d'amidon à 10 p. 100, l'autre également à 57° avec son volume de solution de sucre candi à 50 p. 100, après 24 heures de contact l'essai des liquides était fait à l'aide de la liqueur de Fehling, on trouva ainsi les quantités suivantes par litre de sucre réducteur estimé en glycose :

	Pour l'amidon. gr.	Pour le sucre. gr.
Le 1 ^{er} jour	12.50	3.25 (1)
2 ^e —	17.38	5.55
3 ^e —	18.44	12.50
4 ^e —	28.00	29.10
5 ^e —	10.00	22.22
6 ^e —	2.18	14.26
7 ^e —	0.30	14.26
8 ^e —	0.00	14.26
9 ^e —	0.00	9.80
10 ^e —	0.00	2.18
11 ^e —	0.00	0.60
12 ^e —	0.00	0.00

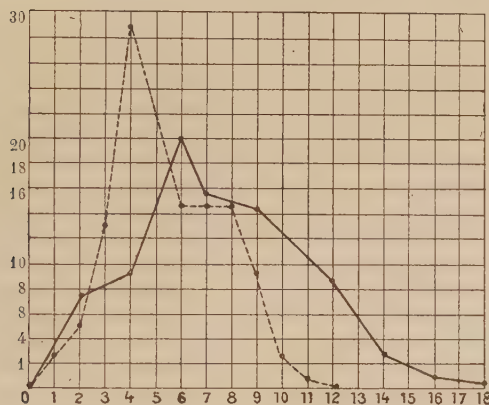


Fig. 33. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la sucrase dans le bouillon contenant 2 p. 100 d'amidon. La ligne brisée indique la première expérience, la ligne droite la seconde.

Une seconde expérience faite dans les mêmes conditions nous donna les chiffres suivants :

	Pour l'amidon. gr.	Pour le sucre. gr.
Le 2 ^e jour	6.54	7.81
4 ^e —	11.32	9.50
6 ^e —	17.44	20.00
7 ^e —	» »	15.40
8 ^e —	11.00	» »
9 ^e —	» »	14.30
10 ^e —	5.34	12.00
12 ^e —	1.30	8.40
14 ^e —	1.00	2.32
16 ^e —	0.00	0.96
18 ^e —	0.00	0.00

(1) Quant à la quantité de sucre réducteur contenu dans le liquide de culture, nous l'avons négligée, divers essais nous ont montré qu'au maximum elle atteignait 08^r,5 par litre et qu'il avait disparu le troisième ou quatrième jour.

En continuant toujours nos expériences dans cette direction, nous avons ajouté 2 pour 1 000 de sucre candi au bouillon simple et en opérant de la même façon que nous avons fait pour le bouillon additionné d'amidon, nous avons obtenu les chiffres suivants :

Première expérience. — Mis à l'étuve 14 ballons du bouillon contenant 200 grammes de bouillon additionné de 0^{gr},2 pour 100 de sucre candi.

Dans les chiffres suivants le sucre réducteur est estimé en glucose et rapporté à un litre :

	Pour le sucre. gr.	Pour l'amidon. gr.
Le 1 ^{er} jour	8.00	9.25
2 ^e —	25.42	46.00
3 ^e —	28.58	48.30
4 ^e —	30.78	30.14
5 ^e —	40.25	46.66
6 ^e —	40.00	45.55
7 ^e —	4.44	6.24
8 ^e —	3.35	6.20
9 ^e —	2.04	4.80
10 ^e —	1.75	3.40
11 ^e —	0.30	1.42
12 ^e —	0.00	0.80
14 ^e —	0.00	0.00

Deuxième expérience. — Cette expérience fut faite exactement dans les mêmes conditions que la première, seulement l'analyse des liquides ne fut faite que tous les deux jours.

Nous avons obtenu les chiffres suivants :

	Pour le sucre. gr.	Pour l'amidon. gr.
Le 2 ^e jour	20.38	48.74
4 ^e —	22.40	20.85
6 ^e —	24.70	22.22
8 ^e —	28.30	26.66
10 ^e —	46.23	44.42
12 ^e —	3.36	3.70
14 ^e —	1.90	1.90
16 ^e —	0.40	0.74
18 ^e —	0.00	0.00

Il ressort de ces expériences que, sous l'influence de l'amidon comme aliment, le bacille *mesentericus* secrète plus d'amylase que dans le bouillon nutritif ordinaire,

ainsi le chiffre maximum que nous avons obtenu avec le bouillon simple était 13,74 tandis qu'avec le bouillon addi-

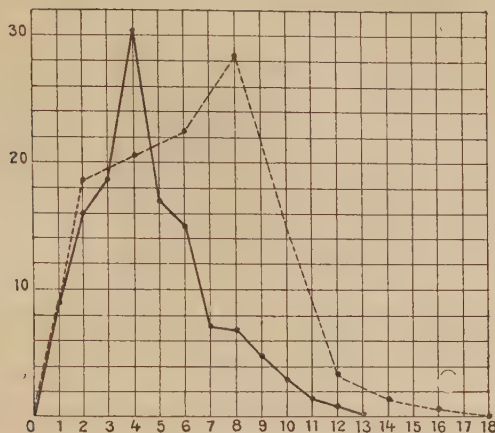


Fig. 34. — Tableau montrant la marche de l'amylase dans le bouillon contenant 2 p. 1000 de sucre. La ligne droite indique la première expérience, la ligne brisée la seconde.

tionné d'amidon il s'élève à 28,56, la quantité du *sucrase* a également augmenté, car elle s'élève à 29,10, tandis que

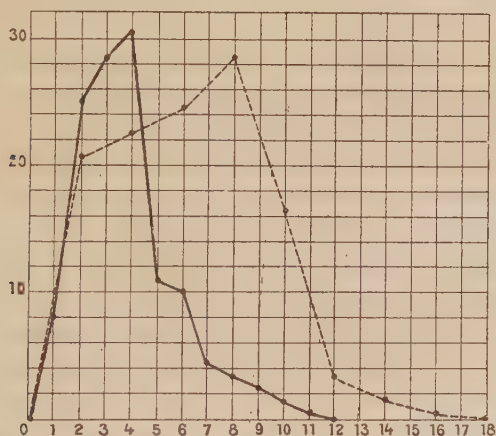


Fig. 35. — Tableau montrant la marche de la sucrase dans le bouillon contenant 2 p. 1000 de sucre. La ligne droite indique la première expérience, la ligne brisée la seconde.

dans le bouillon simple il n'a atteint que 13,66. De même sous l'influence du sucre ce bacille sécrète plus de sucrase que dans le bouillon simple, en effet la quantité de sucrase

s'élève de 13,66 à 32,90 sous l'influence du sucre, la quantité d'*amylase* s'élève également, car elle passe de 13,66 à 29,14.

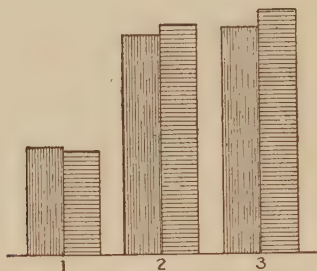


Figure 36 montrant les quantités proportionnelles des diastases amylase et sucrase, contenues dans le bouillon simple (1), le bouillon avec 2 p. 1000 d'amidon (2), le bouillon avec 2 p. 1000 de sucre (3).

Nous avons vu que le bacille *mesentericus vulgatus* cultivé dans le lait, coagulait celui-ci puis dissolvait le coagulum, que de plus il dissolvait également l'albumine du lait et qu'il devait, cultivé dans ce milieu, sécréter au moins trois diastases, une présure, une caséase et une diastase dissolvant l'albumine.

Naturellement il me vint de suite à l'esprit de chercher si dans ce milieu nous ne pourrions pas trouver une réponse plus affirmative que nous ne l'avons eue jusqu'à présent à la question, l'aliment a-t-il une influence quelconque sur les diastases sécrétées par les végétaux? Si, par exemple nous trouvons dans le lait une grande quantité de l'une des trois diastases que nous venons d'énumérer, nous serons en droit de répondre affirmativement.

La première expérience que je fis pour résoudre cette question est la suivante :

Je mêlai une partie du liquide qui huit jours auparavant avait été du laitensemencé avec le bacille *mesentericus vulgatus*, avec une, deux, trois, cinq et dix parties de lait. Ces mélanges placés dans des flacons furent ensuite mis dans une étuve à 57°; au bout d'une demi-heure le lait de tous les flacons était coagulé, je les laissai à l'étuve jusqu'au lendemain et je vis alors que le lait de tous les flacons, sauf celui qui en renfermait dix n'était plus coagulé, mais était transformé en un liquide semblable à celui avec lequel je les avais mêlés.

Ces résultats me parurent assez encourageants pour mériter que j'entreprisse une étude méthodique de la sécrétion des deux diastases qui évidemment avaient agi dans cette expérience.

Je stérilisai donc une assez grande quantité de lait pour avoir, dans toute mon expérience, un lait de composition bien identique et après en avoir séparé le beurre par décan-tation, je le répartis par 100 grammes dans 20 ballons de 250 grammes et après une nouvelle stérilisation à 115° et les avoirensemencé, je les plaçai à l'étuve les uns à côté des autres.

D'un autre côté, je stérilisais plusieurs litres de lait, que je conservais pour étudier sur un lait de même composition l'action des diastases.

Chaque jour j'ouvrais un des ballons et après avoir séparé grossièrement à l'aide d'une flanelle les micro-organisme, et les premiers jours le caseum, je mettais le liquide filtré en contact avec 1, 2, 3, 4, 5, 100, 200, etc., parties de lait et je remplaçais les ballons contenant ces mélanges de suite à l'étuve à 57°, pour éviter l'action de la vie des micro-organismes et n'avoir que celle des diastases je portais par avance le lait et le liquide de culture à 57°, pendant l'opération il pouvait bien baisser de quelques degrés, mais comme elle était vite faite, quelques minutes, et que le bacille ne se développe qu'au-dessous de 50°, cette baisse de température ne pouvait pas permettre l'action de la vie des microbes, de plus je mettais toujours à côté d'eux plusieurs ballons témoins ne renfermant que du lait, je fis de cette manière deux séries d'expériences, comme les résultats concordent dans les deux, j'ai jugé inutile de les renouveler, d'autant plus qu'une seule série était fort longue à mener à bien tout entière : I^{re} série, le 19 avril 1888.

Une, deux, trois, quatre, huit, seize, trente, quarante, cinquante, cent, deux cents parties de lait sont mises en contact avec une partie du liquide d'une culture âgée de 24 heures. Le lait des ballons qui renfermaient 1, 2, 3, 4, 8 parties de lait est coagulé au bout de 25 minutes, ceux qui en renfermaient 16, 30 et 40 seulement au bout de 35 minutes, de plus le coagulum des deux derniers

ballons était mou, peu ferme, diffuant en un mot; les ballons renfermant 50, 100 et 200 parties de lait ne montrèrent, même après 24 heures de séjour à l'étuve, aucun signe de coagulation.

Le 20 avril, on renouvelle la même série de mélanges que la veille; le liquide employé est donc celui d'une culture de 48 heures. Pour abréger autant que possible, nous dirons qu'une partie du liquide de culture a coagulé 100 parties de lait. Les ballons renfermant plus de 60 parties de lait contenaient un coagulum mou.

Le 21 avril. *Liquide de culture de trois jours.* Le liquide de culture a coagulé 500 parties de lait, le coagulum était mou à partir de 200 parties de lait.

Le 22 avril. *Le liquide de culture de quatre jours.* Le liquide de culture a coagulé 600 parties de lait, le coagulum était mou à partir de 400 parties de lait.

Le 23 avril. *Liquide de culture de cinq jours.* Le liquide de culture a coagulé 800 parties de lait, le coagulum était mou à partir de 600 parties de lait et le coagulum du mélange à parties égales et au quart était dissout au bout de 24 heures.

Le 24 avril. *Liquide de culture de six jours.* Le liquide de culture a coagulé 900 parties de lait le coagulum était mou à partir de 800 parties de lait et le coagulum du mélange à parties égales, au tiers, au quart, et au neuvième était dissout au bout de 24 heures.

Le 25 avril. *Liquide de culture de sept jours.* Le liquide de culture a coagulé 1 000 parties de lait, le coagulum du mélange au neuvième et au-dessous était dissous.

Le 27 avril. *Liquide de culture de neuf jours.* Le liquide de culture a coagulé seulement 400 parties de lait, il y a donc eu une disparition rapide dans la quantité de présure contenue dans le liquide de culture. La diastase dissolvant le coagulum formé n'a pas augmenté car seulement les mélanges à 9 parties et au-dessous sont dissous au bout de 24 heures.

Le 28 avril. *Liquide de culture du dixième jour.* Le liquide de culture a coagulé seulement 250 parties de lait et le coagulum était ferme seulement jusqu'au mélange au 200°. La quantité de caséine a considérablement augmenté puis-

qu'elle a dissous tous les coagulums des mélanges inférieurs à 1/16, ce dernier inclusivement.

Le 29 avril. *Liquide de culture de onze jours*. Le liquide de culture peut seulement coaguler cinquante fois son volume de lait, mais si la présure diminue dans ce liquide la caséase augmente, car elle est en assez grande quantité pour dissoudre le coagulum de 29 fois son volume de lait.

Le 30 avril. *Liquide de culture de douze jours*. Le liquide de culture coagule seulement cinquante fois son volume de lait, la caséase commence aussi à diminuer, car elle ne peut dissoudre que le coagulum de quinze fois son volume de lait au lieu de vingt qu'elle dissolvait la veille.

Le 1^{er} mai. Pas d'expériences faites ce jour-là.

Le 2 mai. *Liquide de culture de 14 jours*. Le liquide de culture ne coagule plus que 30 fois son volume de lait et il ne renferme que la caséase capable de dissoudre le coagulum de neuf fois son volume de lait.

Le 3 mai. Pas d'expériences.

Le 4 mai. *Liquide de culture de seize jours*. Le liquide de culture coagule toujours trente fois son volume de lait et la diastase qu'il renferme est capable de dissoudre le coagulum de 8 fois son volume de lait.

Le 6 mai. *Liquide de culture de dix-huit jours*. Le liquide coagule quinze fois son volume de lait.

Le 8 mai. *Liquide de culture de vingt jours*, ne coagule pas de lait et n'en dissout pas.

Nous donnerons plus loin deux tracés, l'un indiquant la quantité de lait qu'un volume de liquide de culture aux différents jours est capable de coaguler, le second les quantités de lait que la caséase renfermée dans un volume est capable de dissoudre, c'est-à-dire de rendre incoagulable par la chaleur et l'acide acétique.

Dans les mêmes conditions nous avons refait une seconde série d'expériences avec du lait différent, ce dernier était un peu plus riche en caséine, il en contenait 37,10 pour 1 000 tandis que le premier n'en renfermait que 34,56 pour 1 000.

Deuxième série. Le 9 mai, on ensemente 20 ballons de 250 grammes contenant chacun 100 grammes de lait écrémé avec le bacille *mesentericus vulgatus* et on les place

au voisinage l'un de l'autre dans une étuve chauffée à 36-38°.

Le 11 mai. *Liquide de culture de deux jours*. Le liquide de culture est capable de coaguler 60 fois son volume de lait.

Le 12 mai. *Liquide de culture de trois jours*. Le liquide de culture est capable de coaguler 200 fois son volume de lait.

Le 13 mai. *Liquide de culture de quatre jours*. Le liquide de culture est capable de coaguler 500 fois son volume de lait et de dissoudre le coagulum de son volume de lait.

Le 14 mai. *Liquide de culture de cinq jours*. Le liquide de culture est capable de coaguler 800 fois son volume de lait et de dissoudre le coagulum de son volume de lait.

Le 15 mai. *Liquide de culture de six jours*. Le liquide de culture est capable de coaguler 900 fois son volume de lait et de dissoudre le coagulum de six parties de lait.

Le 16 mai. *Liquide de culture de sept jours*. Le liquide de culture est capable de coaguler comme la veille 900 fois son volume de lait et de dissoudre le coagulum formé par 8 parties de lait.

Le 18 mai. *Liquide de culture de neuf jours*. Comme la veille le liquide de culture est capable de coaguler 1 200 fois son volume de lait et de dissoudre le coagulum de 11 parties de lait.

Le 19 mai. *Liquide de culture de dix jours*. La présure contenue dans le liquide de culture a diminué d'une quantité considérable, car il n'est plus capable que de coaguler 600 fois son volume de lait, elle a donc diminué de moitié ou a perdu la moitié de sa force, quant à la caséine elle a augmenté en quantité, car elle dissout le coagulum de 17 fois son volume de lait.

Le 20 mai. *Liquide de culture de onze jours*. La présure du liquide de culture continue à subir une baisse rapide, car elle ne peut plus coaguler que 200 fois son volume de lait, la caséase qu'elle renferme reste stationnaire; elle dissout, comme le liquide de culture de la veille, le coagulum de 17 fois son volume de lait.

Le 21 mai. *Liquide de culture de douze jours*. La présure du liquide de culture ne coagule que cinquante fois son volume de lait et la caséine diminue aussi en quantité,

car elle ne dissout que le coagulum de huit fois son volume de lait.

Le 22 mai. *Liquide de culture de treize jours*. Le liquide de culture ne coagule plus que trente fois son volume de lait et continue à dissoudre le coagulum de huit fois son volume de lait.

Le 24 mai. *Liquide de culture de quinze jours*. Ce liquide donne les mêmes résultats que celui de 13 jours, mais il ne dissout que sept fois son volume de lait.

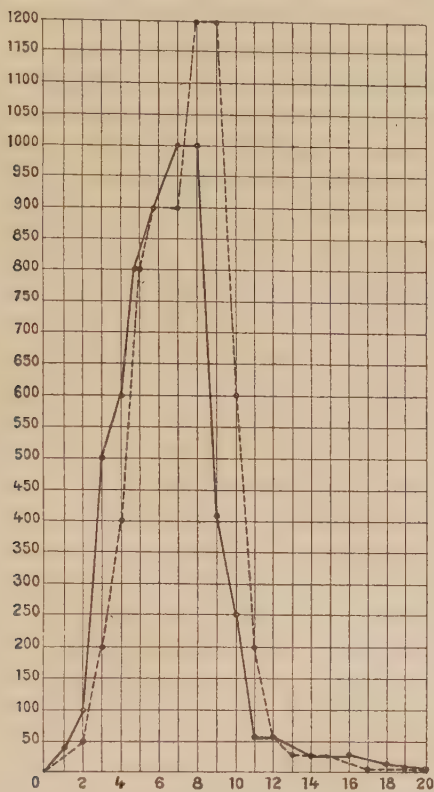


Fig. 37. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans le lait. La ligne droite indique la première expérience, la ligne ponctuée la seconde.

Le 26 mai. *Liquide de culture de dix-sept jours*. Le liquide de culture ne peut coaguler que quatre fois son volume de lait, en même temps que la présure, la caséase a subi une diminution considérable, car le liquide, ne peut dissoudre que le coagulum de son volume de lait.

Le 28 mai. *Liquide de culture de dix-neuf jours.* Le liquide coagule et dissout la même quantité de coagulum que celui de l'avant-veille.

Le 29 mai. *Liquide de culture de vingt jours.* Le liquide ne coagule que deux fois son volume de lait et il ne dissout plus le coagulum d'aucune quantité de lait et deux jours plus tard il est incapable de coaguler son volume de lait.

Maintenant que nous avons constaté la présence d'une présure et d'une caséase dans le lait qui a servi de liquide de culture au bacille *mesentericus vulgatus*, nous chercherons s'il ne renferme pas d'autres diastases.

Nous constatons d'abord qu'il n'est pas plus possible de mettre en relief la présence de la diastase amenant la dissolution de l'albumine dans le lait, que dans le bouillon, que le ferment qui dissocie les cellules des plantes me paraît pas aussi se rencontrer dans ce milieu.

Quant à l'amylase et la sucrase, on les retrouve dans le lait dans lequel ce bacille a été cultivé quoique en assez faible proportion, ainsi qu'il en résulte des expériences suivantes.

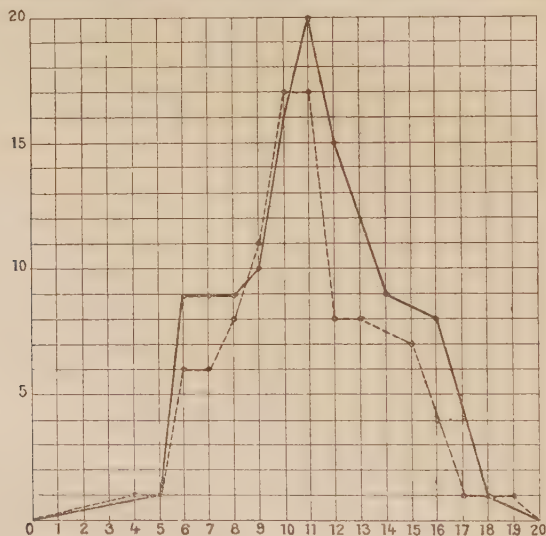


Fig. 38. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la caséase dans le lait. La ligne droite indique la première expérience, la ligne ponctuée la seconde.

Le 20 mai, j'ai mis à l'étuve, après les avoirensemencés, 12 ballons contenant du lait renfermant par litre 42^{sr},93 de

lactose qui réduisait la liqueur de Fehling normale comme 39^{gr},56 de glycose puisque 0^{gr},1 de glycose correspondent à 0^{gr},134 de lactose.

Le 22 mai on ouvrit un des ballons, son contenu fut divisé en deux parties égales qui furent mises à 57° en contact l'une avec son volume de solution de sucre, l'autre avec son volume d'empois d'amidon, le lendemain l'essai à la liqueur de Fehling en tenant compte du dédoublement des liqueurs indiqua 39^{gr},56 de sucre réducteur estimé en glycose, le liquide de culture ne renfermait donc point d'amylase ou sucrase.

Le 23 mai, on ouvrit un second ballon et son contenu traité de même, indiqua que le liquide contenait 47^{gr},06 de sucre réducteur estimé en glycose pour le ballon dans lequel on avait mis le lait en présence du sucre et 46^{gr},74 pour celui où il avait été mis en présence de l'amidon, il s'était donc formé pour le sucre $47,06 - 39,56 = 7,50$ de sucre réducteur et pour l'amidon $47,74 - 39,56 = 7,18$ de sucre réducteur.

Nous avons obtenu pour les jours suivants les quantités ci-après de sucre réducteur.

	Pour le sucre.	Pour l'amidon.
	gr.	gr.
Le 24 mai.....	7.90	7.25
25 —	8.40	8.26
26 —	11.05	10.74
27 —	13.33	12.25
28 —	13.34	12.35
29 —	10.27	12.10
30 —	7.30	6.42
1 ^{er} juin.....	7.25	6.25
2 —	6.80	5.70
3 —	6.80	5.60

Nous n'avons pas poursuivi cette recherche plus loin, car nous avons épuisé les ballons que nous avions mis en expérience et pour pouvoir faire des recherches comparatives il nous eût fallu recommencer une autre série, d'autant plus que n'ayant constaté la présence dans ce lait d'une sucrase et d'une amylase, ce qui était ce que nous cherchions, nous avons atteint le but que nous désirions. Nous nous sommes contentés de contrôler les résultats que nous venons de rapporter, en examinant à divers

moments des ballons de lait dans lesquels nous avons cultivé le bacille mesentericus. Aussi nous avons deux fois constaté que ce lait ne contenait pas d'amylase ou de sucrase pendant les 48 premières heures de la culture, qu'elles n'apparaissaient qu'après, une fois même seulement le troisième jour.

Un lait dans lequel le bacille avait été cultivé depuis 6 jours transformait en sucre interverti 9^{gr},70 de sucre, c'est-à-dire qu'il contenait 10^{gr},32 de sucre interverti, puisque 342 de sucre correspondent à 360 de sucre interverti $10,32 \times \frac{340}{360} = 9,703$. Mis en contact avec de l'empois d'amidon, il s'enrichissait de 9^{gr},35 de sucre réducteur estimé en glycose. Un lait dans lequel le bacille avait été cultivé pendant 9 jours s'enrichissait mis en contact avec une solution de sucre de 9,30 de sucre estimé en glycose et mis en contact avec de l'amidon, de 10,74 de sucre également estimé en glycose.

Nous avons constaté que ces deux diastases disparaissaient vers le 15^e ou 16^e jour de la culture; une fois seulement nous les avons trouvés le 17^e.

Dans le lait le bacille mesentericus vulgaris développe également la diastase qui empêche la solidification par le refroidissement de la gélatine hydratée; les quantités de cette diastase qui se trouvent dans le lait sont presque égales mais un peu plus faible que celles qui se trouvent dans le bouillon; la seule différence notable que j'aie observé est que cette diastase s'y trouve un peu plus longtemps, je l'ai retrouvée le 13^e et le 15^e jour de la culture.

Nous avons vu plus haut que ce bacille ne se développait pas (p. 46) dans du lait dont on avait enlevé la caséine, c'est-à-dire dans du petit lait ne contenant pas de l'albumine mais qu'il se développait dans le petit-lait additionné de peptone. Il m'a paru que l'étude comparative des diastases se trouvant dans le petit lait et de celles du lait dans lequel le bacille mesentericus aura été cultivé serait intéressante, pour connaître l'influence de l'aliment sur les diastases sécrétées par ce micro-organisme, j'ai donc fait les expériences suivantes :

Le 10 mai — j'ai préparé du petit-lait à froid, je lui

ai ajouté de la peptone dans la proportion de 1 p. 100, puis je l'ai neutralisé, il fut stérilisé par 3 chauffages à 60° pendant une heure chaque jour.

Le 15 mai, après ensemencement, il fut mis à l'étuve à 36°.

Le 16, il est devenu légèrement trouble.

Le 17, il existe par places à sa surface une mince membrane.

Le 18, la membrane couvre la surface, mais elle est toujours très mince.

Le 19, la membrane est un peu plus épaisse, mais toujours lisse. On mêle du liquide de culture avec des quantités croissantes de lait et on voit qu'il renferme assez de présure pour coaguler 12 parties de lait.

Le 20 il en coagula.....	32 parties.
21 —	34 —
22 —	18 —
23 —	17 —
24 —	7 —
25 —	6 —
26 —	1 —
27 —	0 —

Une seconde expérience nous donna à peu près les mêmes résultats.

Le 1 ^{er} , le 2 ^e et le 3 ^e jour il n'en coagula pas.	
Le 4 ^e jour il coagula.....	15 parties.
5 ^e — —	20 —
6 ^e — —	31 —
7 ^e — —	31 —
8 ^e — —	19 —
9 ^e — —	8 —
10 ^e — —	8 —
11 ^e — —	0 —

Quant à une caséase il nous fut impossible d'en déceler la moindre trace.

Nous avons vu plus haut (p. 89) que lorsqu'on ensemence du lait coagulé spontanément avec le bacille *mesentericus vulgaris*, la dissolution du caséum se fait beaucoup plus lentement que lorsque c'est sous l'influence de ce bacille que la coagulation se fait, même si on a pris le soin

d'agiter fortement le caséum et le petit-lait avec de la craie, puis de lui ajouter en outre une très légère quantité de carbonate de soude afin d'assurer la neutralisation. Nous n'avons pas pu donner une explication de ce fait, mais il nous a paru qu'il serait intéressant de rechercher si, dans un tel lait, nous trouverions les mêmes diastases que dans le lait non coagulé et si elles existeraient en mêmes proportions.

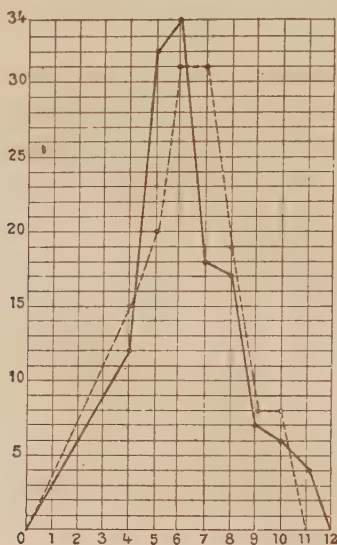


Fig. 39. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans du petit lait additionné de peptone. La ligne droite indique la première expérience, la ligne ponctuée la seconde.

Le 6 mai, nous avons mis à l'étuve 26 ballons contenant chacun 100 grammes de lait coagulé spontanément agité avec de la craie et alcalinisé avec 2 grammes de carbonate de soude par litre, puis neutralisé à 44,5° et ensemencé.

Le deuxième jour de la culture le liquide ne coagulait pas le lait.

Le 3 ^e jour le liquide coagulait.....				4 parties de lait.	
4 ^e	—	—		4	—
5 ^e	—	—		10	—
6 ^e	—	—		10	—
7 ^e	—	—		80	—
8 ^e	—	—		120	—
9 ^e	—	—		100	—

Nous avons refait dans les mêmes conditions une seconde expérience dont voici les résultats.

Le 2 ^e jour le liquide de culture coagulait...	2 parties de lait.
3 ^e — — — ...	5 —
4 ^e — — — ...	5 —
5 ^e — — — ...	12 —
6 ^e — — — ...	14 —
7 ^e — — — ...	50 —
8 ^e — — — ...	130 —
9 ^e — — — ...	130 —
10 ^e — — — ...	40 —
11 ^e — — — ...	40 —
12 ^e — — — ...	25 —
13 ^e — — — ...	8 —
14 ^e — — — ...	4 —
15 ^e — — — ...	2 —
16 ^e — — — ...	0 —

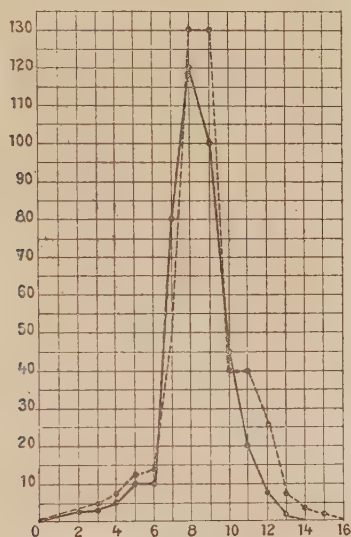


Fig. 40. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans le lait coagulé. La ligne droite indique la première expérience, la ligne ponctuée la seconde.

Nous avons déjà vu que ce bacille se développe très bien dans une solution de caséine additionnée de sels minéraux (phosphate tribasique de potasse et chlorure de sodium), nous avons cherché d'abord quelle était la proportion de présure et de la caséase qui pouvait se trouver dans ce mélange, puis les autres diastases.

Nous avons ainsi trouvé que le premier jour de culture ce liquide ne coagulait pas le lait, que

Le 2 ^e jour une partie de ce liquide en coagulait... 2 parties.			
3 ^e	—	...	4 —
4 ^e	—	...	4 —
5 ^e	—	...	10 —
6 ^e	—	...	15 —
7 ^e	—	...	35 —
8 ^e	—	...	60 —
9 ^e	—	...	60 —
10 ^e	—	...	20 —
11 ^e	—	...	9 —
12 ^e	—	...	3 —
13 ^e	—	...	0 —

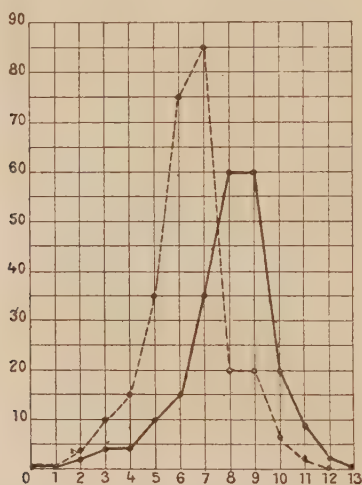


Fig. 41. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans une solution de caséine et de sels minéraux. La ligne droite indique la première expérience, la ligne ponctuée la seconde.

Une seconde expérience faite dans les mêmes conditions nous donna les chiffres suivants, qui se rapprochent de ceux de la précédente expérience.

Le 1 ^{er} jour le liquide ne coagulait pas le lait.			
2 ^e	—	coagulait.....	3 parties de lait.
3 ^e	—		40 —
4 ^e	—		15 —
5 ^e	—		35 —
6 ^e	—		75 —
7 ^e	—		85 —
8 ^e	—		20 —
9 ^e	—		20 —
10 ^e	—		7 —
11 ^e	—		3 —
12 ^e	—		0 —

Dans le lait qui a servi de milieu de culture au bacille *mesentericus vulgatus* nous avons donc trouvé cinq diastases existant dans des proportions fort différentes, la présure domine, puis viennent la caséase, l'amylase, la sucrase et la diastase amenant la liquéfaction de la gélatine.

Les quantités de présure varient avec la forme sous laquelle la caséine est donnée comme aliment à ce micro-organisme, par exemple la quantité de cette diastase est très grande dans le lait ordinaire, plus faible dans le lait coagulé avant de servir de milieu de culture et enfin devient encore plus faible lorsque la caséine lui est offerte comme aliment après avoir été dissoute dans l'eau à la faveur de sels alcalins.

Le résultat final de ces expériences nous montre que l'aliment joue certainement un certain rôle sur l'espèce de diastase sécrétée par le bacille *mesentericus vulgatus*. Nous avons vu au début de ce chapitre que l'influence d'une petite quantité d'amidon ou de sucre se faisait déjà sentir, mais les différences entre les quantités de diastases (amylase et sucrase) sécrétées par ce bacille dans le bouillon ordinaire et dans le bouillon additionné de sucre et d'amidon n'étaient pas très marquées, tandis que avec la caséase nous avons des chiffres très différents, suivant que le bacille est cultivé dans un milieu contenant ou non de la caséine; comme maximum nous trouvons par exemple



Fig. 42. — Tableau représentant les quantités proportionnelles du pouvoir coagulant maximum trouvé dans une partie des divers liquides de cultures qui avaient été : 1° du bouillon; 2° du lait; 3° du lait coagulé; 4° du petit-lait; 5° une solution de caséine; 6° des pommes de terre crues.

une quantité de présure que nous pouvons représenter par 35 dans le bouillon, 34 dans le petit-lait et qui s'élève à 85 dans une solution de caséine, à 130 dans le lait coagulé et à 1 200 dans le lait. Afin de rendre ces différences plus facilement visibles nous avons fait la figure 42.

Il semble donc légitime de conclure que l'aliment dans une certaine mesure agit sur la quantité de diastase sécrétée par ce micro-organisme; nous n'osons pas dire qu'il agit également sur la qualité, car nous avons toujours trouvé avec la diastase dont la quantité était la plus considérable d'autres diastases, il est vrai, quelquefois en faible quantité mais n'en existant pas moins.

Il est un autre fait à noter dans toutes ces expériences, c'est la rapidité avec laquelle les diastases disparaissent des liquides de culture, je me suis demandé quelle en était la raison, on a supposé que cela tenait à des phénomènes d'oxydation, en tous cas il me semble que ces phénomènes d'oxydation se produisent surtout lorsque la plante est en activité, car j'ai conservé pendant cinq jours dans de la glace un bouillon en culture depuis sept jours, et le cinquième jour il réduisait aussi activement le sucre que le premier.

CHAPITRE XVI

Diastases sécrétées sur les pommes de terre cruës et cuites.

Il nous reste à chercher quelles sont les diastases qui sont sécrétées par la bacille *mesentericus vulgatus*, lorsqu'on le cultive sur des pommes de terre.

Sur la pomme de terre cuite, il est évident, d'après ce que nous avons déjà vu, que nous aurons l'*amylase* et peut-être aussi la *sucrase*. Comme les pommes de terre sont un milieu solide, j'ai, pour obtenir les diastases, broyé avec leur poids d'eau des demi-pommes de terre, sur lesquelles ce micro-organisme avait été cultivé. La pâte ainsi obtenue était soumise à la presse et le liquide exprimé, filtré à travers du papier en se servant de la trompe. C'est avec ce liquide qui naturellement tenait en dissolution tous les produits solubles se trouvant dans les pommes de terre, que j'ai fait mes recherches.

Mais les pommes de terre étant des milieux solides, la culture n'arrivant en contact avec les diverses parties que petit à petit, si elle y arrive, les produits solides que nous obtiendrons ne seront pas les produits d'un jour donné, mais ceux de ce jour et des jours précédents.

Si les pommes de terre de la fin de l'année ne contiennent pas une quantité notable de glycose, les pommes de terre nouvelles en renferment une quantité assez considérable, aussi avons-nous déterminé leur richesse en ce sucre, afin d'éviter les erreurs, en broyant la seconde moitié des pommes de terre, mises en culture avec un poids connu d'eau et en cherchant dans ce liquide la quantité de glycose qui y était contenue.

Pommes de terre crues. Le 6 juin, nous mettons en culture six demi-pommes de terre nouvelles, deux jours plus

tard nous les broyons avec leur poids d'eau, le broiement s'effectue facilement, car sauf un fragment n'ayant pas plus d'un demi-centimètre d'épaisseur pour chaque pomme de terre, elles sont complètement ramollies. Le liquide qu'on obtient est brun, il renferme de nombreuses cellules du parenchyme et des grains d'amidon, on le filtre à travers du papier en s'aidant de la trompe. Le liquide qui passe est brun clair et transparent. Il renferme $2^{\text{sr}},3$ de glycose par litre.

On en mêle 100 centimètres cubes avec 2 grammes d'amidon séché à 100° , on place le tout à l'étuve à 57° . Le lendemain on cherche la teneur en sucre réducteur de ce liquide; il en renferme la même quantité que la veille.

Pour m'assurer que l'amidon n'avait pas diminué, j'ai jeté le dépôt sur un filtre, je l'ai lavé, puis séché et pesé et j'ai retrouvé 2 grammes d'amidon. Il avait donc été laissé intact par le liquide.

Pour n'avoir point à revenir sur ce sujet, je dirai que j'ai cherché si le liquide que j'obtenais avec les pommes de terre mises en culture depuis 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 et 14 jours était capable d'attaquer l'amidon cru et que mes résultats furent toujours absolument négatifs.

J'ai cherché ensuite les autres diastases qui étaient contenues dans ce liquide, j'ai commencé par la recherche de l'*amylase*, puis celle de la *sucre*, j'ai donc mêlé des parties égales du liquide de broiement des pommes de terre avec des parties égales d'empois d'amidon et de solution à 50 p. 100 du sucre, les mélanges furent placés dans l'étuve à 57° . Le lendemain le liquide du flacon contenant l'amidon renfermait $8^{\text{sr}},33$ du sucre réducteur estimé en glycose, desquels il faut retrancher les $2^{\text{sr}},3$ qui y étaient contenus à l'avance.

Le liquide du flacon contenant du sucre renfermait par litre $14^{\text{sr}},38$ du sucre interverti estimé en glycose, c'est-à-dire en retranchant le glycose du liquide $12^{\text{sr}},08$.

J'ai également recherché la présence de la *caséase* et de la *présure* dans ce liquide, mais je n'ai constaté que la présence de la présure; une partie de ce liquide coagulait 50 fois son volume de lait.

Le milieu sur lequel le micro-organisme avait été cultivé convenait on ne peut mieux à la production de la

diastase dissociant les cellules végétales; aussi ai-je cherché si elle existait dans ce liquide, pour le faire j'ai mis dans ce liquide à 58° un cube de pomme de terre crue ayant 1/2 centimètre de côté et un autre de navet ayant le même volume; le lendemain le cube de navet avait toutes ses cellules dissociées, et le cube de pomme de terre avait les siennes sur plus de la moitié de son épaisseur.

J'ai continué à opérer de la même façon avec des pommes de terre mises en culture depuis 3, 4, 5, 6, 7... 14 jours.

Le liquide obtenu avec les pommes de terre de 3 jours de culture transformait assez d'amidon pour que le sucre réducteur estimé en glycose s'élevât à 41^{gr}, 41 par litre.

Il intervertissait, mêlé à son volume de solution à 50 p. 400 de sucre, 30^{gr}, 21 de sucre estimé en glycose, il coagulait 50 fois son volume de lait et dissociait presque toutes les cellules d'un cube de pomme de terre de 5 millimètres de côté et complètement celle d'un cube de navet de même volume.

Le liquide des pommes de terre de 4 jours de culture transformait assez d'amidon pour que le sucre réducteur formé s'élevât à 9^{gr}, 23 dosé en glycose. Il intervertissait, mêlé à volume égal avec une solution de sucre, 26^{gr}, 97 de sucre estimé en glycose.

Il coagulait 70 fois son volume de lait et il dissociait presque toutes les cellules d'un cube de pomme de terre de 5 millimètres de côté et complètement celle d'un cube de navet de même volume.

Les pommes de terre de cinq jours de culture sont complètement ramollies, elles s'écrasent sous la moindre pression, elles sont assez fortement colorées en brun. Le liquide qu'on extrait après filtration est beaucoup plus foncé que celui des jours précédents.

Il transformait assez d'amidon pour que le sucre réducteur estimé en glycose s'élevât à 8^{gr}, 23. Il intervertissait 26^{gr}, 45 de sucre estimé en glycose, il coagulait 80 fois son volume de lait et dissociait presque toutes les cellules d'un cube de pomme de terre de 5 millimètres de côté et complètement celles d'un cube de navet de même volume.

Le liquide des pommes de terre de 6 jours de culture (elles étaient aussi molles que celles de cinq jours) trans-

formait assez d'amidon pour que le sucre réducteur estimé en glycose s'élevât à $7^{\text{sr}},4$. Il intervertissait $42^{\text{sr}},18$ de sucre estimé en glycose et coagulait 90 fois son volume de lait. Il dissociait les cellules d'un cube de pomme de terre et d'un cube de navet comme le liquide des pommes de terre de 5 jours de culture.

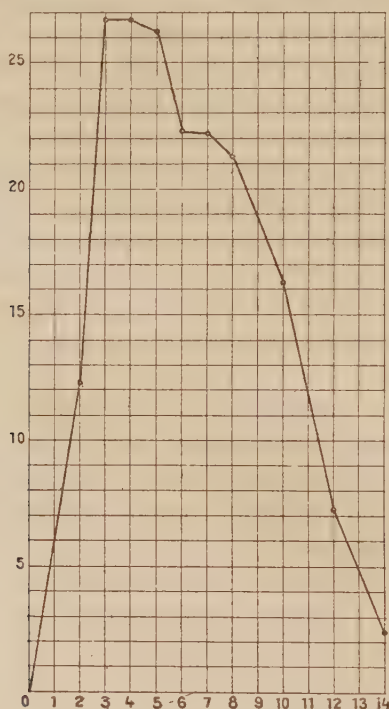


Fig. 43. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la sucrase sur les pommes de terre crues.

Les pommes de terre après 7 jours de culture sont si ramollies, que c'est avec peine qu'en les prenant avec précaution on peut les transporter du cristalliseur dans le mortier, le liquide qu'elles donnent a une couleur brun acajou très marquée.

Il contenait assez de diastase pour que, mêlé avec son volume d'empois d'amidon, il en transformât assez en sucre réducteur pour que celui-ci s'élevât à $7^{\text{sr}},13$. Il intervertissait $33^{\text{sr}},16$ de sucre estimé en glycose et coagulait 90 fois son volume de lait, il dissociait les cellules d'un cube de

pomme de terre et d'un cube de navet comme le liquide des pommes de terre de 6 jours de culture.

Les pommes de terre après 8 jours de culture étaient sensiblement dans le même état que celles de sept jours de culture. L'amylase, la sucrase et la présure y étaient contenues sensiblement dans les mêmes proportions, car nous avons obtenu avec l'amidon 7^{gr},12, avec le sucre 23^{gr},14 de sucre réducteur estimé en glycose et la coagulation de 85 parties de lait; la diastase dissociant les cellules végétales y était également dans les mêmes proportions.

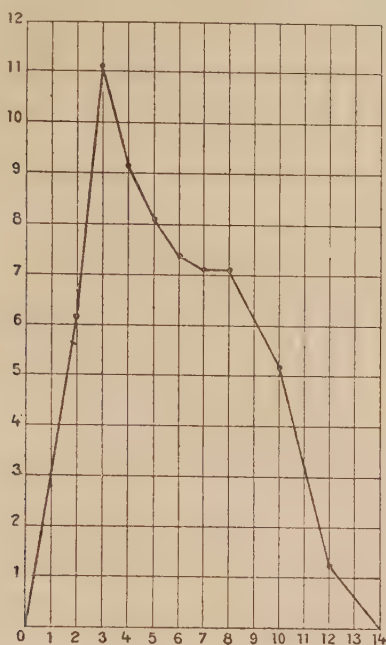


Fig. 44. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de l'amylase sur les pommes de terre crues.

Les pommes de terre, après 10 jours de culture, étaient complètement ramollies, elles formaient une masse brune qui s'affaissait d'elle-même, les diastases qu'elles contenaient sont diminuées de quantité, car avec l'amidon nous ne trouvons plus que 5^{gr},14 et avec le sucre 17^{gr},23 de sucre réducteur estimé en glycose et une partie du liquide ne coagule plus que 60 parties de lait. Quant à la diastase dissociant les cellules végétales, elle est en même quantité que la veille.

Les quantités de diastases secrétées par ce micro-organisme diminuent rapidement en quantité après le dixième jour : en effet, le douzième, le liquide de broiement des pommes de terre ne renfermait qu'une trace de la diastase dissociant les cellules végétales et, mis en contact avec de l'empois d'amidon, on ne décelait que 2^{sr},24 de sucre réducteur et 7^{sr},45 de sucre interverti lorsqu'on le plaçait en contact d'une solution de sucre. La présure avait aussi diminué, car une partie de ce liquide ne coagulait plus que 10 parties de lait.

Le quatorzième jour les seules diastases que j'ai pu déceler étaient la sucrase et la présure, et encore ces deux diastases y étaient-elles en bien faible proportion : en effet, je n'ai trouvé que 2^{sr},13 de sucre interverti et le liquide ne coagulait que 3 parties de lait.

Le seizième jour je n'ai dans cette expérience trouvé aucune diastase.

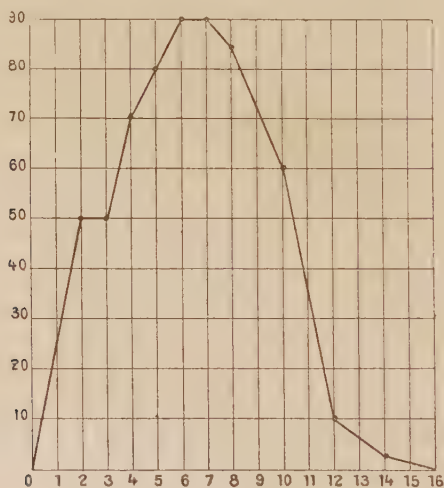


Fig. 45. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure sur les pommes crues.

Dans une autre série d'expériences le douzième jour je n'ai trouvé en fait de diastases que la présure et la caséase, le quatorzième jour elles avaient disparu, la diastase dissociant les végétaux n'existait plus à partir du huitième jour.

Mais, sauf ces légères différences, la marche de l'expérience fut absolument la même que dans la précédente, les

quantités de diastases estimées d'après leur action furent aussi sensiblement les mêmes.

Sur les pommes de terre cuites, comme nous l'avons déjà vu, ce bacille se développe admirablement bien, mais la recherche des diastases qui sont sécrétées par ce bacille y est plus difficile que sur les pommes de terre crues, car sous l'influence de la coction les grains d'amidon se sont fortement gonflés et laissent difficilement passer les sucs sécrétés par le micro-organisme, de plus il est inutile d'y rechercher l'amylase, car cette diastase se trouvant sur ce milieu en contact avec une quantité considérable d'amidon est toute employée dans son milieu de culture à la transformation de l'amidon hydraté qui s'y trouve présent; pour m'assurer qu'il n'y en avait pas un excès non employé j'ai mis de l'eau dans laquelle j'avais broyé des pommes de terre sur lesquelles le micro-organisme avait été cultivé en contact avec de l'amidon cuit, après avoir déterminé le pouvoir réducteur de cette solution sur la liqueur de Fehling, et j'ai trouvé le lendemain le même pouvoir réducteur, ce qui indique que toute la diastase était employée au fur et à mesure de sa production.

Comme à cause de l'imperméabilité des pommes de terre cuites la culture et les produits de la culture ne pénètrent presque pas, j'ai fait mes cultures sur des tranches de pommes de terre n'ayant pas plus de un centimètre d'épaisseur.

La quantité de sucrase sécrétée par ce bacille n'est pas très élevée, beaucoup moins que sur les pommes de terre crues : voici par exemple le résultat d'une expérience.

Un volume de l'eau de broiement de pommes de terre au deuxième jour de la culture mêlé avec son volume de solution à 50 p. 100 de sucre renfermait, après avoir passé 24 heures à l'étuve à 57°, 5^{gr}, 43 de sucre interverti estimé en saccharose.

Des pommes de terre cultivées 3 jours donnèrent....	7.58
— — 4 — —	7.58
— — 5 — —	4.43
— — 6 — —	4.32
— — 7 — —	2.57
— — 8 — —	1.27
— — 9 — —	0.75
— — 10 — —	0.00

Deux autres expériences faites exactement dans les mêmes conditions donnèrent des résultats presque identiques.

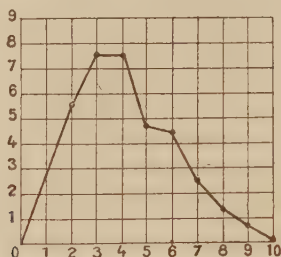


Fig. 46. — Tableau montrant la marche de la sucrase sur les pommes de terre cuites.

J'ai cherché si sur ce milieu le bacille sécrétait une présure et une caséase, je n'ai pu déceler que la première de ces deux diastases et encore existait-elle en très faible quantité, et le maximum que j'en ai trouvé fut le quatrième jour de la culture et une partie de liquide ne coagulait que 30 parties de lait.

Quant à la diastase dissociant les cellules végétales, je ne puis affirmer positivement son existence, elle me paraît cependant exister en très faible quantité.

CHAPITRE XVII

Comparaison entre la diastase (amylase) sécrétée par le bacille *mesentericus vulgatus* et celle contenue dans le pancréas.

A propos de la question soulevée par M. Pasteur, relativement au rôle que jouent les bactéries et leurs produits dans la digestion, rôle qui d'après M. Pasteur serait très considérable, si considérable qu'il paraît incliner à penser que sans les bactéries la digestion ne serait pas possible, j'ai voulu comparer autant que possible les quantités de diastases sécrétées par un poids donné du bacille *mesentericus vulgatus*, avec un même poids de pancréas. Je ne parlerai ici que d'une expérience faite dans ce but comparatif.

J'ai mis en culture un ballon contenant 200 grammes de bouillon nutritif et 0,4 grammes d'amidon ; le cinquième jour la quantité d'amylase abandonnée dans le liquide de culture par le bacille *mesentericus* est à son maximum, j'ai alors enlevé la zoogléa formée à la surface du liquide, elle pesait humide 1^{gr},75 et j'ai mélangé le liquide de culture avec son volume d'un empois d'amidon à 5 p. 100, puis placé le tout à une température de 57°.

D'un autre côté, j'ai prélevé 1^{gr},75 de matière glandulaire du pancréas d'un chien que je venais de sacrifier, 6 heures après son dernier repas composé de pommes de terre et de graisse. Le pancréas fut broyé de suite avec un peu de poudre de verre et 200 grammes d'eau glacée, puis la liqueur mêlée avec son volume du même empois d'amidon qui m'avait servi pour la liqueur de culture et le mélange fut mis à l'étuve à 57°.

Toutes les heures, je fis le dosage du liquide des deux

ballons à l'aide de la liqueur de Fehling et j'ai obtenu les résultats suivants :

	Liquide de culture.	Liquueur de pancréas.
	(Le sucre réducteur est exprimé en glycose et la quantité rapportée à un litre.) gr.	gr.
1 heure.....	13.33	36.36
2 heures.....	20.12	48.54
3 —	21.5	49.26
4 —	23.4	49.26
5 —	23.4	49.26
6 —	23.4	49.26

L'examen de ces chiffres montrait que la diastase est plus puissante ou plus abondante dans la glande que dans le même poids de plante.

On peut faire diverses objections à mon expérience et par conséquent infirmer plus ou moins la valeur de mes résultats, je vais essayer de répondre aux objections que je prévois et en discuter la valeur.

On peut me dire que ma liqueur pancréatique contenait, outre les produits de la sécrétion des glandulaires, des micro-organismes, puisqu'on en trouve dans les canaux glandulaires du pancréas, cela est parfaitement vrai, mais je ferai observer d'abord que les microbes du pancréas n'ont pu agir par eux-mêmes à cause de la température à laquelle le mélange était maintenu, puis ensuite que la quantité de diastase qu'ils ont pu sécréter dans les canaux de la glande est bien faible, car s'ils existent incontestablement dans le pancréas vivant, ils ne sont pas très nombreux, par conséquent l'action de leurs produits n'a pas pu dans cette expérience exercer grande influence sur les résultats. Pour voir combien a dû être minime leur influence, il suffit d'estimer dans son esprit le nombre de micro-organismes contenu dans les 1^{er}, 75 de pancréas et de le comparer au nombre de micro-organismes que contenait la zoogée qui a fourni la diastase que nous comparons.

Cette objection me paraît avoir si peu de valeur, que sans vouloir donner mon expérience comme une expérience cruciale, je me crois autorisé à dire que la quantité ou la force de la diastase sécrétée par un poids de pancréas est plus considérable que celle sécrétée par un même poids de bacille *mesentericus vulgatus*.

Il serait tentant de tirer de cette expérience des conclusions plus générales sur le rôle des microbes dans la digestion, mais je ne crois pas qu'il soit légitime de le faire ; la question posée : *quelle est la part des glandes et quelle est celle des micro-organismes habitant notre tube digestif dans la digestion des aliments?* est trop complexe et entourée de trop de difficultés pour qu'il ne soit pas téméraire d'essayer même de la résoudre sans faire un nombre considérable d'expériences. Aussi quoique je puisse apporter ici une série assez nombreuse d'expériences faites avec la muqueuse stomacale et le pancréas d'enfants ayant succombé dans le travail de l'accouchement ou peu d'instant après leur naissance, par conséquent pancréas et estomac exempts de tout germe, car rien n'avait encore pénétré dans le tube digestif, je ne tirerai nulle conclusion générale et me contenterai de la conclusion restreinte que j'ai énoncée, d'autant plus que dans ce travail je traite d'une question plus restreinte.

CHAPITRE XVIII

Résumé.

1° Le bacille *mesentericus vulgatus* reconnu comme espèce par Flügge a été trouvé par R. Koch, qui, parce qu'il se cultive avec la plus grande facilité sur les pommes de terre, le nomma *kartoffel-bacille*.

2° Ce bacille est un des micro-organismes les plus répandus, on le trouve dans l'eau, dans l'air, dans le tube digestif, dans toutes les matières en voie de destruction, etc. : ainsi de la terre prise dans le jardin du Luxembourg contenait 313 colonies dont 41 étaient formées par ce bacille ; celle d'un champ de blé avec 31 colonies formées par ce bacille sur 287 en tout. Une prise d'air faite à Paris renfermait 70 colonies dont 4 de ce bacille. De l'eau puisée dans la Seine donna 442 colonies dont 13 de ce bacille.

Les grains de blé de diverses origines, la farine, le son en contiennent des quantités considérables.

3° Le bacille *mesentericus vulgatus* cultivé dans le bouillon de veau est un petit bâtonnet mesurant de 2 à 4 μ de long et 1 de large, ses extrémités sont légèrement arrondies, rarement les bâtonnets sont isolés, le plus souvent ils forment de longues chaînes rarement rigides, car généralement les articles sont un peu inclinés les uns sur les autres.

Les bacilles sont formés d'une enveloppe gélatineuse assez épaisse, à l'intérieur de laquelle existe une fine membrane appliquée directement sur le protoplasma. L'enveloppe gélatineuse et la membrane sont formées par un hydrate de carbone — variété de cellulose — la membrane n'est que la couche interne solide de l'enveloppe gélatineuse.

Le protoplasma est homogène, quelquefois légèrement granuleux ou plutôt trouble.

La longueur des bacilles varie suivant les milieux, ainsi souvent ils atteignent 5 μ sur l'amidon, dans le lait leur longueur varie entre 2 et 30 μ .

La substance gélatineuse qui forme la paroi externe des bacilles ne se dissout pas dans l'eau, mais s'y gonfle comme la gomme, de sorte qu'on peut la séparer; traitée ensuite par l'acide sulfurique très étendu pendant plusieurs heures, elle se transforme en glycose. Il y a donc lieu de la considérer comme une forme de cellulose.

Lorsque la culture est vieille cette substance disparaît.

4° Souvent dès le deuxième jour, dans les cultures faites dans le bouillon et sur la gélose pour devenir très abondants plus tard, quelques-uns des bacilles présentent un état particulier de leur protoplasma, ils ne prennent plus les matières colorantes, à l'aide d'un fort grossissement on voit que la membrane se colore bien, mais le protoplasma reste presque entièrement incolore ou présente seulement quelques points se colorant, l'espace non coloré paraît être rempli par un liquide granuleux. Il est impossible d'attribuer cet état à un appauvrissement du milieu nutritif ou à la formation de matières nuisibles, car à côté des bacilles vacuolisés on en trouve d'autres qui se divisent énergiquement.

5° La multiplication par division de ces bacilles se fait, comme chez toutes ces plantes; au milieu d'un long bacille on voit apparaître une cloison qui se dédouble ensuite de façon à donner naissance à deux bacilles, qui lorsqu'ils auront atteint la taille de la cellule dont ils viennent se dédoubleront à leur tour; les divisions successives sont parallèles.

6° Les spores dans ce bacille se montrent souvent au bout de quelques jours de culture en même temps que les bacilles en voie de division continuent à pulluler. Ce fait démontre bien que les spores ne sont pas une forme que les bacilles engendrent lorsque le milieu nutritif est épuisé, du reste cette opinion a déjà été démontrée inexacte par M. Van Tieghem pour le bacille amylobacter, aussi les spores sont pour moi simplement une forme de l'évolution

de ces plantes plus résistante que les bacilles, de même que les graines sont plus résistantes que les plantes dont elles viennent.

7° Les spores apparaissent dans ce bacille comme un petit point très réfringent au milieu du protoplasma, ce point en quelques heures atteint son complet développement, il est alors légèrement ovoïde, très réfringent et possède un contour fort net. La spore a la même largeur que le bacille, mais est plus courte au moins d'un tiers. En même temps que la spore se forme, le protoplasma du bacille se raréfie de plus en plus, de sorte que lorsqu'elle est formée, le bacille ne contient, outre elle, qu'un liquide. La membrane du bacille disparaît 2 à 6 heures après que la spore est complètement développée.

Le bacille ne s'épaissit pas en un point, comme c'est le cas pour beaucoup d'espèces de bacilles lorsque la spore va se former.

8° Les spores ne se colorent pas par les méthodes ordinaires avant qu'on ait amené leur mort, de préférence par une haute température.

9° Les bacilles germent hors des spores, d'après plusieurs observateurs, tantôt suivant le grand axe de la spore, tantôt suivant le petit axe. Il m'est impossible d'être absolument affirmatif sur la manière dont les bacilles germent des spores du bacille *mesentericus vulgatus*, car elles sont si petites que l'observation de ce phénomène est à peu près impossible. Cependant il m'a semblé qu'après que la spore était devenue moins réfringente, le bacille sortait par un des pôles, puis grandissait et finalement abandonnait la spore vide.

10° Sur la gélatine nutritive étendue en plaque, au bout de 24 heures, si la température est voisine de $+ 18^{\circ} + 20^{\circ}$, lorsqu'on y aensemencé du bacille *mesentericus vulgatus*, on voit apparaître une petite tache ronde, opaque, qui au bout de 48 heures s'entoure d'une zone plus claire ; des bords de cette zone nettement découpés partent comme une auréole de nombreux fins filaments. Si les colonies sont nombreuses, en quelques jours elles ont envahi toute la plaque et se soudent les unes aux autres par leurs bords.

11° Ensemencé par piqûre dans la gélatine au bout de

48 heures, ce bacille forme un élégant entonnoir qui s'étend jusqu'à la partie inférieure de la piqure. Cet entonnoir est rempli par de la gélatine liquéfiée, un peu blanchâtre, qui contient dans son fond et le long de la ligne d'ensemencement des grumeaux plus opaques et plus denses. Dès le quatrième jour, la gélatine entière est ramollie dans toute l'étendue traversée par l'aiguille d'ensemencement. En même temps il se forme à sa surface une membrane plissée d'un aspect crémeux.

12° Sur la gélose nutritive, il se fait des colonies blanchâtres, arrondies, à bords festonnés. Au bout de 48 heures les colonies se sont confondues par leurs bords, et la gélose est recouverte d'une pellicule blanchâtre, opaque, finement chagrinée, qui s'en détache avec difficulté, la pellicule ne s'étend plus sur la gélose qui a été dénudée de la culture.

13° Lorsqu'onensemence ce bacille dans du bouillon de veau nutritif, pendant les premières heures de l'ensemencement, ce bouillon est trouble, puis vers la vingtième heure une zooglée commence à se former à sa surface et en même temps le bouillon s'éclaircit, la zooglée s'épaissit rapidement, se plisse, de sorte que vers la trentième heure la surface du bouillon est recouverte par une membrane très plissée blanche. Vers le huitième jour l'aspect de cette membrane rappelle les cavités cardiaques. Les grosses travées sont à cette époque brunâtres et les petites jaunâtres.

Vers le huitième ou dixième jour la membrane ou zooglée tombe au fond du ballon; le bouillon en même temps commence à brunir, et les micro-organismes réunis dans le fond du ballon, après avoir adhéré entre eux, se détachent les uns des autres, par suite de la disparition de la substance visqueuse qui les réunissait.

14° Le bacille *mesentericus vulgaris* se cultive très bien dans le bouillon acidifié au 1/2000 par l'acide chlorhydrique.

15° Si le bouillon contient de 2 à 5 p. 100 de glycose, la zooglée de la surface est plus finement plissée que celle qui se forme sur le bouillon ordinaire, elle est aussi plus blanche. Si le bouillon contient 10 p. 100 de gélatine, la zooglée est jaunâtre.

16° Si onensemence le bacille *mesentericus* dans du

bouillon contenant de 10 à 15 p. 100 de saccharose, il ne se forme pas une zoogée épaisse à la surface, mais le bouillon devient très trouble, et ce trouble persiste jusqu'au quinzième ou vingtième jour, puis après le bouillon brunit.

17° Sur les pommes de terre cuites, au bout de 24 heures à 36-38°, il se forme une culture ayant de 1 à 3 centimètres de diamètre; la culture est d'un blanc grisâtre, très plissée, généralement au bout de 48 heures la culture couvre toute la surface de la pomme de terre, sous la forme d'une zoogée très adhérente et très plissée. Vers le sixième jour la culture est devenue d'un brun sale, les saillies et les creux n'existent pour ainsi dire plus.

18° Sur les pommes de terre crues, surtout sur celles riches en protoplasma, la culture se fait encore mieux que sur les pommes de terre cuites.

19° Un des ferments des matières albuminoïdes décrit par M. Duclaux, le *tyrothrix tenuis*, se rapproche beaucoup du bacille *mesentericus vulgaris*, mais je ne pense pas qu'il soit le même, cependant je ne saurais trop le répéter, ces deux bacilles sont très voisins l'un de l'autre.

20° Le bacille *mesentericus* se développe relativement bien entre + 16° et + 20°, la température optimum paraît être comprise entre 34° et 41°. Entre + 49° et + 75° il ne se développe pas, mais exposé ensuite à une température plus basse, il se développe.

Chauffé au moins 3 heures entre + 75° et + 88°, il ne se développe plus.

Chauffé à + 90° pendant 20 minutes, il ne se développe plus, mais s'il est chauffé en dehors de la présence de l'oxygène, il faut élever la température à + 92° pour le tuer.

Il faut faire subir aux spores une température de + 115 pendant 10 minutes pour tuer les spores humides; hors de la présence de l'air il faut élever cette température à au moins + 125°.

Les spores sèches ne sont tuées que par une chaleur de + 150° maintenue pendant 20 minutes; hors de la présence de l'air il faut élever la température à + 160°.

L'oxygène à des températures élevées joue donc un

certain rôle dans la mort des bacilles et des spores, il y a une oxydation probablement et non seulement une simple coagulation du protoplasma par la chaleur.

21° Le bacille *mesentericus* présente également une assez forte résistance vis-à-vis des substances dites antiseptiques; ainsi pour empêcher son développement il faut ajouter dans les milieux dans lesquels il a été ensemencé un millième d'acide phénique, vingt-cinq millièmes de bichlorure de mercure, et pour arrêter son développement lorsqu'il a commencé, il faut élever la dose d'acide phénique à 1 quatre-centième et celle du bichlorure de mercure à 1 vingt-millième. Le suc gastrique n'a aucune action sur lui.

22° Le bacille *mesentericus* ne se développe que dans les milieux qui contiennent des matières albuminoïdes en solution (albumine animale ou végétale, peptone, caséine, gélatine).

Mis en présence de substances tertiaires seules ou additionné de sels minéraux (sucre, amidon, glycose), il ne se développe pas; mais si une faible quantité de matière albuminoïde est ajoutée, il vit très bien aux dépens de ces substances.

L'exemple le plus frappant de ce fait est le suivant: on fait une pâte avec de l'amidon, de la dextrine et une solution de sels ayant à peu près la même composition que ceux de la pomme de terre. On divise cette pâte en 3 portions, à l'une on n'ajoute rien, à une autre de la peptone et à la dernière du sérum sanguin. On ensemence avec le bacille *mesentericus vulgaris* et on met les trois mélanges à côté l'un de l'autre à l'étuve. Sur les deux mélanges contenant les matières albuminoïdes il se développe très bien, mais nullement sur celui qui n'en contient pas.

23° Parmi les sels ceux de potasse et particulièrement le phosphate tribasique lui sont particulièrement favorables.

24° D'une série d'expériences faites sur la respiration du bacille *mesentericus vulgaris* nous avons trouvé que 1 gramme de plante séchée à 100° cultivé dans un bouillon contenant 24^{gr}, 24 de matériaux solides et brûlables par litre fixait 1164^{cc}, 29 d'oxygène et en transformait 7147^{cc}, 28 en acide carbonique.

Si on augmente la quantité des matériaux brûlables, qu'on les porte par exemple à 24,15, la quantité d'oxygène fixé augmente, elle s'élève à 1602 d'oxygène et la quantité d'oxygène transformé en acide carbonique s'élève aussi, mais proportionnellement plus, car elle est alors de 12.849,70 centimètres cubes.

25° Le bacille *mesentericus* se développe très bien dans une atmosphère riche en oxygène; une tension égale à cinq fois la tension de ce gaz dans l'air ne l'empêche pas de se développer. Il se développe également dans une atmosphère pauvre en oxygène (2 p. 100), mais pas du tout dans une atmosphère n'en contenant pas; si, après l'avoir laissé plusieurs jours dans une atmosphère n'en contenant pas, on laisse l'air arriver à son contact, il se développe.

26° En employant le procédé de MM. Schutzenberger et Risler pour doser l'oxygène total contenu dans un milieu de culture et en faisant l'analyse de l'atmosphère de l'appareil, j'ai vu que 1 gramme de plante séchée à 100° brûlait et fixait, en 24 heures, 1530,30 centimètres cubes d'oxygène.

Si on compare ce gramme de plante à un gramme d'un homme adulte faisant un travail modéré, on voit que cette plante dans le même laps de temps en consomme 215 fois plus.

27° L'albumine cuite de l'œuf, mise dans du bouillon faible dans lequel ce bacille est cultivé, devient, vers le troisième jour de la culture, transparente et un peu gonflée; les jours suivants l'albumine se gonfle davantage et se désagrège; puis elle disparaît, de sorte que vers le neuvième jour on n'en aperçoit plus nulle trace; puis le liquide se fonce et répand une odeur ammoniacale.

Cette dissolution de l'albumine paraît être due à une diastase sécrétée par les micro-organismes et non à une action propre à ceux-ci.

28° La fibrine se dissout exactement de la même manière, mais plus vite, ce qui tient à sa forme filamenteuse qui lui fait présenter plus de surface d'attaque. Le liquide brunit ensuite fortement et répand une odeur très franche d'ammoniaque.

29° Le bouillon dans lequel on a placé des fragments de

gluten donne de très riches cultures ; en même temps le gluten est dissous. La couleur du liquide de culture est alors d'un brun acajou. Chauffé, ce liquide dégage d'abord une odeur ammoniacale, puis une odeur de pain frais.

30° Ce micro-organisme cultivé dans de la gélatine la liquéfie très rapidement ; en même temps il se fait une culture très abondante. Lorsque la gélatine est entièrement liquéfiée, si on laisse la culture se continuer, la gélatine se fonce en couleur jusqu'à ce qu'elle devienne très brune.

31° Ensemencé dans du lait, le bacille *mesentericus vulgaris* le coagule d'abord très rapidement ; le lait se divise alors en deux couches, en bas le coagulum, en haut le petit lait. Le troisième jour de la culture, le coagulum commence à se dissoudre ; il est alors mou, peu dense et se désagrège facilement. Le cinquième jour, la caséine est entièrement dissoute ; le liquide résultant de cette dissolution est jaune clair, sa surface est couverte d'une couche floconneuse et visqueuse formée en majeure partie par le micro-organisme. Vers le dixième jour le liquide commence à brunir, enfin vers le vingtième ou le vingt-cinquième jour le lait est transformé en un liquide brun. Ce liquide ne se trouble pas par l'ébullition ; séché, il donne une poudre brune orangée. Dans le lait il se forme toujours un peu d'acide lactique.

32° Le bacille *mesentericus* dissout également mais plus lentement la caséine coagulée par l'acide lactique, si on a pris soin de la neutraliser.

33° La caséine coagulée puis dissoute dans l'eau à la faveur de sel alcalin est également attaquée par le bacille *mesentericus vulgaris*.

34° Le sucre est interverti par ce bacille, en présence toutefois d'une matière albuminoïde ; cette interversion se produit, que la solution du sucre soit faible ou concentrée. Cependant la marche du phénomène diffère un peu suivant les cas. Si la solution est faible, la totalité du sucre est totalement intervertie ; si le sucre est contenu à une dose élevée, par exemple à dose supérieure à 300 grammes par litre, on ne trouve dans la liqueur que des quantités de sucre interverti correspondant à 300 grammes environ

de saccharose par litre, et cette quantité reste longtemps constante. Je me suis assuré que cela tenait à ce qu'une fois cette quantité de sucre interverti atteinte, le saccharose restant dans la liqueur n'était interverti qu'à mesure qu'une partie du sucre interverti était brûlée ou utilisée par la plante.

Ce bacille ne brûle ou n'utilise qu'une faible quantité de sucre interverti par jour, ainsi 25^{es},38 de saccharose ne le furent qu'en 110 jours.

Une partie du sucre sert à l'édification de nouvelles cellules de ce végétal, car 100 grammes de ce bouillon donnèrent 0^{es},124 de plante séchée à 100°, et 100 grammes de bouillon contenant 10 grammes de sucre donnèrent 0^{es},247 de plante également séchée à 100°; une autre partie est transformée en acide carbonique et en alcool, mais la proportion de ce dernier corps ne dépasse jamais 2 p. 100 dans le liquide de culture.

35° L'amidon cuit est également transformé en une ou des substances réductrices de la liqueur de Fehling, probablement en glucose, maltose et dextrine.

La quantité d'amidon transformée par ce bacille est proportionnellement égale à la quantité de matière en présence de laquelle il se trouve; la transformation de l'amidon s'arrête au bout d'un certain nombre de jours, car il se forme dans la culture de l'acide butyrique, et 1 p. 100 de cet acide arrête la végétation de ce micro-organisme, il ne transforme l'amidon que si cet hydrate de carbone se trouve mélangé à des substances albuminoïdes.

36° L'amidon cru est également attaqué par ce micro-organisme, mais l'attaque ne se produit qu'à la longue, lorsque le bacille paraît avoir épuisé presque toutes les substances du milieu dans lequel il se trouve; il m'a été impossible de constater que cet amidon était transformé en un sucre réducteur de la liqueur de Fehling; les grains d'amidon sont régulièrement usés et ils diminuent petit à petit de volume.

L'amidon de riz, plus riche en cellulose que l'amidon des pommes de terre, est attaqué plus lentement.

37° Le bacille *mesentericus vulgatus* sécrète une diastase qui dissocie les éléments (cellules et fibres) des végétaux lorsque la formation du bois et du liber n'est pas excessi-

vement avancée; il attaque seulement la substance moyenne des cloisons. En cultivant ce micro-organisme sur des parties de végétal riche en protoplasma ou en plaçant des parties de végétal encore peu dense dans un liquide dans lequel on le cultive, on dissout facilement cette substance, et la simple agitation dans l'eau isole les éléments les uns des autres.

38° Ce micro-organisme n'a nulle action sur l'urée qu'il ne transforme pas en carbonate d'ammoniaque, et cela quelle que soit la richesse de l'urine en matières albuminoïdes.

39° L'aliment donné au bacille *mesentericus vulgaris* exerce une certaine action sur la quantité des diastases sécrétées par ce micro-organisme.

Dans une solution aqueuse de peptone à 1 p. 100 qui n'est pas un milieu des plus favorables pour ce bacille, il sécrète seulement de l'*amylase* et de la *sucrase*.

Dans le bouillon de veau neutralisé, il sécrète une *amylase*, une *sucrase*, une *présure*, une *diastase dissociant les éléments jeunes des tissus végétaux* et une autre *diastase empêchant la prise de la gélatine*.

Si on ajoute à ce bouillon une faible quantité d'amidon ou de sucre, on voit la quantité d'*amylase* et de *sucrase* augmenter.

Mais le phénomène de l'influence de l'aliment sur la sécrétion des diastases est surtout marqué avec le lait. Une partie de bouillon nutritif dans lequel le micro-organisme a été cultivé ne peut coaguler que 30 parties de lait, une d'une solution de caséine coagule 60 parties de lait, une de lait coagulé en coagule 140, enfin une de lait neutralisé 1200 parties, de plus dans ce milieu il sécrète une *présure* qui y est contenue en assez grande quantité pour que une partie de lait dissolve la caséine de 29 volumes de lait.

Mais outre la *présure* et la *caséase* on trouve encore dans le lait qui a servi de liquide de culture une *sucrase* et une *amylase*.

Sur les pommes de terre crues, ce bacille sécrète de l'*amylase* et de la *sucrase* en assez faible proportion et la *diastase* qui désunit les cellules végétales les unes des autres.

Sur les pommes de terre cuites, nous n'avons trouvé qu'une très faible proportion de sucrase et de caséase.

40° Si on compare la quantité d'amylase sécrétée en 5 jours par un poids donné du bacille *mesentericus vulgatus* avec celle qui se trouve dans le même poids de pancréas d'un chien en pleine digestion, on voit que la quantité de cette diastase existant dans le pancréas est deux fois plus considérable, ou deux fois plus forte que celle qui se trouve dans le bouillon qui a servi de milieu de culture à la plante.

Vu et approuvé. Paris, le 25 Mars 1889.

Le Doyen de la Faculté des Sciences

HÉBERT.

Vu et permis d'imprimer. Paris, le 25 Mars 1889.

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris

GRÉARD.

TABLE DES FIGURES ET DES TRACÉS

Fig. 1. — Appareil pour recueillir des bactéries de l'air.....	6
— 2. — Bacille <i>mesentericus vulgatus</i> cultivé dans divers milieux.....	13
— 3. — Divers bacilles pris dans une culture faite dans du bouillon de veau, montrant les altérations qui se produisent souvent dans ce bacille.....	16
— 4. — Chambre chaude à régulateur direct pour les observations microscopiques.....	18
— 5. — Formation des spores dans le bacille <i>mesentericus vulgatus</i>	20
— 6. — Germination des spores du bacille <i>subtilis</i> d'après Prazmowski.....	23
— 7. — Deux cellules du <i>bacillus ventriculus</i> avec des spores..	24
— 8. — Divers états de développement des bacilles hors des spores du bacille <i>carotarum</i> et du bacille <i>tumescens</i>	24
— 9. — Spores du bacille <i>mesentericus</i> à divers états de développement.....	26
— 10. — Tube de gélatine peptonisée,ensemencé par piqûre avec le bacille de la pomme de terre.....	28
— 11. — Pipette renflée en ampoule.....	38
— 12. — Appareil pour étudier les changements qui se produisent dans la composition des gaz en présence du bacille <i>mesentericus vulgatus</i>	57
— 13. — Tableau montrant la marche de l'inversion du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 20 p. 1,000.....	93
— 14. — Tableau montrant la marche de l'inversion du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 50 et 500 p. 1,000.....	96
— 15. — Tableau montrant la marche de l'inversion du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 200 p. 1,000.....	97
— 16. — Tableau montrant la marche de l'inversion du sucre dans un liquide de culture en contenant dans la proportion de 400 et 450 p. 1,000.....	98
— 17. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon dans un empois contenant 20 p. 1,000 d'amidon sec.....	108

Fig. 18. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon dans un empois contenant 40 p. 1,000 d'amidon sec.	111
— 19. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon dans un empois contenant 80 p. 1,000 d'amidon sec.	113
— 20. — Tableau montrant la marche de la transformation de l'amidon dans un empois contenant 120 p. 1,000 d'amidon sec.	115
— 21. — Trois cellules d'amidon de la pomme de terre : 1, cellule simplement isolée de ses voisines par la diastase du bacille ; 2 et 3, cellules de la pomme de terre venant d'une culture âgée de vingt jours, dans la cellule 2 les grains sont moins attaqués que dans la cellule 3.	121
— 22. — Tableau montrant les quantités de sucre réducteur trouvé avec l'empois d'amidon sur lequel a agi pendant deux heures à des températures différentes un liquide de culture.	136
— 23. — Tableau montrant les quantités de sucre réducteur trouvé dans le sirop de sucre sur lequel a agi pendant deux heures à des températures différentes un liquide de culture.	137
— 24. — Tableau montrant les quantités de sucre réducteur trouvé dans l'empois d'amidon sur lequel a agi à 57° pendant des temps variables un liquide de culture.	138
— 25. — Tableau montrant les quantités de sucre réducteur trouvé dans le sirop de sucre sur lequel a agi à 57° pendant des temps variables un liquide de culture.	138
— 26. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de l'amylase dans une solution de peptone à 1 p. 100.	139
— 27. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la sucrase dans une solution de peptone à 1 p. 100.	141
— 28. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de l'amylase dans le bouillon de veau neutralisé et peptonisé.	142
— 29. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la sucrase dans le bouillon de veau neutralisé et peptonisé.	143
— 30. — Tableau montrant les quantités du liquide de culture qu'il faut ajouter à 10 parties de solution à 10 p. 100 de gélatine pour empêcher sa solidification, les chiffres indiquent le nombre de jours qu'avait le liquide de culture.	147
— 31. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de l'amylase dans un bouillon de veau contenant 2 p. 1,000 d'amidon.	148
— 32. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la sucrase dans un bouillon de veau contenant 2 p. 1,000 d'amidon.	149
— 33. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de l'amylase dans un bouillon de veau contenant 2 p. 1,000 de sucre.	151
— 34. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la sucrase dans un bouillon de veau contenant 2 p. 1,000 de sucre.	151
— 35. — Figure montrant les quantités relatives maximum d'amylase et de sucrase existant dans le bouillon de veau additionné de 2 p. 1,000 d'amidon et 2 p. 1,000 de sucre.	152
— 36. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans le bouillon neutralisé et peptonisé.	138

Fig. 37. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans le lait neutre.....	158
— 38. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la caséase dans le lait neutre.....	159
— 39. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans le petit lait peptonisé.....	162
— 40. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans le lait coagulé.....	163
— 41. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure dans la solution de caséine.....	164
— 42. — Tableau montrant comparativement les quantités maximum de présure contenues dans le bouillon, le lait, le lait coagulé, le petit lait, la solution de caséine et les pommes de terre crues.....	165
— 43. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de sucrase contenue dans les pommes de terre crues.....	170
— 44. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de l'amylase contenue dans les pommes de terre crues.....	171
— 45. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de la présure contenue dans les pommes de terre crues.....	172
— 46. — Tableau montrant la marche de la sécrétion de sucrase contenue dans les pommes de terre cuites.....	174

TABLE DES CHAPITRES

CHAPITRE	I. — Historique.....	3
—	II. — Dissémination.....	5
—	III. — Description du bacille.....	12
—	IV. — Développement.....	17
—	V. — Caractère des cultures dans les milieux usuels....	27
—	VI. — Action de la chaleur et des substances dites anti-septiques.....	36
—	VII. — Nutrition.....	42
—	VIII. — Respiration.....	50
	IX. — <i>a.</i> — Dissolution de l'albumine, de la fibrine, du gluten et liquéfaction de la gélatine.....	80
	<i>b.</i> — Transformation du lait et dissolution de la caséine.....	86
—	X. — Inversion du sucre.....	91
—	XI. — Transformation de l'amidon.....	103
—	XII. — Destruction de l'amidon cru.....	116
—	XIII. — Dissociation des éléments cellulaires des végétaux, par une diastase sécrétée par le bacille <i>mesentericus vulgatus</i>	123
—	XIV. — Urée et acide hippurique.....	128
—	XV. — Sécrétion des diastases.....	131
—	XVI. — Diastoses sécrétées sur les pommes de terre crues et cuites.....	167
—	XVII. — Comparaison entre la diastase (amylase) sécrétée par le bacille <i>mesentericus vulgatus</i> et celle contenue dans le pancréas.....	161
—	XVIII. — Résumé.....	163

